



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C12N	A2	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/28439 (43) Date de publication internationale: 10 juin 1999 (10.06.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/02615 (22) Date de dépôt international: 3 décembre 1998 (03.12.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/15197 3 décembre 1997 (03.12.97) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): ASSISTANCE PUBLIQUE-HOPITAUX DE PARIS [FR/FR]; 3, avenue Victoria, F-75004 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): NGUYEN, Quang, Tri [FR/FR]; 129, avenue Maurice Thorez, F-94200 Ivry sur Seine (FR). GARBARG-CHENON, Antoine [FR/FR]; 8, place Charles Fillion, F-75017 Paris (FR). AUGUSTE, Véronique [FR/FR]; 22/30, rue du Borrego, F-75020 Paris (FR). (74) Mandataire: CABINET ORES; 6, avenue de Messine, F-75008 Paris (FR).		(81) Etats désignés: AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CU, CZ, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, SD, SG, SI, SK, SL, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport.</i>
(54) Title: ERYTHROVIRUS AND ITS APPLICATIONS (54) Titre: ERYTHROVIRUS ET SES APPLICATIONS (57) Abstract <p>The invention concerns nucleic sequences derived from a human erythrovirus, their fragments and their applications as diagnostic reagent and as immunogenic agent. Said sequences are selected among the sequences having a $\geq 10\%$ genetic divergence over the whole genome with respect to the B19 erythrovirus sequences, the sequence SEQ ID NO:1 and the nucleotide sequences capable of being hybridized with said sequence ID NO:1.</p> (57) Abrégé <p>Séquences nucléiques issues d'un érythrovirus humain, leurs fragments ainsi que leurs applications, en tant que réactif de diagnostic et en tant qu'agent immunogène. Ces séquences sont sélectionnées parmi les séquences présentant une divergence génétique $\geq 10\%$ sur l'ensemble du génome par rapport aux séquences de l'érythrovirus B19, la séquence SEQ ID NO:1 et les séquences nucléotidiques capables de s'hybrider avec ladite séquence ID NO:1.</p>		

ERYTHROVIRUS ET SES APPLICATIONS.

La présente invention est relative à des séquences nucléiques issues d'un érythrovirus humain, à leurs fragments ainsi qu'à leurs applications, en tant que réactif de diagnostic et en tant qu'agent immunogène.

5 Les études séro-épidémiologiques montrent que l'infection par le parvovirus B19, récemment renommé érythrovirus B19, est communément et largement répandue dans le monde entier.

En Europe, la séoprévalence pour l'érythrovirus B19 est d'environ 10 % chez les sujets de moins de 5 ans, d'environ 50 % pour les sujets de plus de 20
10 ans et supérieure à 90% chez les personnes âgées.

Le taux élevé de séoprévalence suggère que l'érythrovirus B19 est très contagieux. Lors d'épidémies, le taux de transmission à des sujets en contact rapproché est de 10 à 60 %, la voie de transmission étant principalement aérienne (sécrétions respiratoires).

15 L'érythrovirus B19 est un virus spécifiquement humain. L'infection aiguë entraîne communément une éruption cutanée maculo-papuleuse bénigne chez l'enfant (mégalérythème épidermique ou 5^{ème} maladie). Des arthralgies peuvent accompagner l'éruption, et exceptionnellement devenir chroniques.

Une crise érythroblastique aiguë transitoire survient habituellement,
20 chez les patients déjà porteurs d'une anémie hémolytique chronique (drépanocytose, thalassémie, déficit en pyruvate kinase...), entraînant une anémie aiguë aréogénérative transitoire.

La primo-infection aiguë par l'érythrovirus B19 est particulièrement dangereuse chez la femme enceinte avec un risque de transmission au fœtus estimé à
25 30 %. Le risque de mort fœtale est estimé entre 5 et 9 % par anémie, insuffisance hépatique, insuffisance cardiaque et anasarque foeto-placentaire.

Les infections chroniques à érythrovirus B19 se rencontrent essentiellement chez les sujets immunodéprimés (leucémie myéloïde chronique, déficit immunitaire humoral et cellulaire, greffés d'organe ou de moelle, malades du
30 SIDA).

Chez les patients VIH-1 séropositifs, l'infection chronique par érythrovirus B19 est responsable d'anémie chronique, mais peut également agir sur les autres lignées (neutropénie et surtout thrombopénie). L'absence de réponse immunitaire humorale suffisante chez ces patients permet l'installation d'une érythrovirémie
5 chronique et explique à la fois l'érythroblastopénie chronique et l'absence des autres symptômes tels que le rash ou les arthralgies.

L'érythrovirus B19 est un virus à génome ADN à simple brin d'environ 5,4 kbases ; c'est le seul érythrovirus répertorié à ce jour ; toutes les souches qui ont été séquencées et qui ont fait l'objet d'une publication dans les banques de
10 séquences (GenBank ou EMBL) présentent une faible variabilité génétique, (98 % de similitude en séquence nucléotidique sur l'ensemble du génome et 96 % de similitude sur la région VP1) (R.O. SHADE, *J. Virol.*, 1986, 58, 3, 921-936, B19-AU).

Le diagnostic virologique des infections à érythrovirus B19 repose essentiellement sur la détection du génome viral, dans la mesure où la culture n'est pas
15 réalisable en routine.

Pour les infections aiguës, à érythrovirus B19 (primo-infections), cette détection peut se faire par amplification génique (PCR), mais aussi par hybridation (*dot-blot*), compte tenu du titre viral, habituellement très élevé lors des primo-infections (jusqu'à 10^{14} /ml de sérum) ; toutefois, le titre viral est beaucoup plus faible
20 lors des infections chroniques et seule une méthode de détection par amplification génique est envisageable.

Ces techniques de détection sont tributaires de la variabilité génétique du virus recherché ; les réactifs, préparés à partir des séquences d'érythrovirus B19 connues, ne permettent pas de détecter les infections à érythrovirus
25 variant, ni par amplification génique, ni par le sérodiagnostic B19.

En effet, les tests sérodiagnostics existants sont spécifiques de l'érythrovirus B19 (Demande Internationale PCT WO 91/12269 ; Demande Internationale PCT WO 96/09391 (IDEIA® Parvovirus B19 IgG et IgM, DAKO ; Parvovirus B19 IgG et IgM *Enzyme Immunoassay*, BIOTRIN)).

En conséquence, les techniques de détection précisées ci-dessus risquent d'aboutir à des résultats négatifs tant au niveau nucléaire qu'en ce qui concerne la réponse en anticorps.

La mise en évidence et la prise en compte de nouveaux variants sont
5 importantes pour mettre au point :

- des réactifs de détection et de diagnostic des infections à érythro-
virus humain (sérodiagnostic, PCR, hybridation), suffisamment sensibles et spéci-
fiques, c'est-à-dire ne conduisant pas à des résultats faussement négatifs ou fausse-
ment positifs,
- 10 - des compositions aptes à protéger vis-à-vis de l'ensemble des
infections à érythrovirus (vaccins) et
- des compositions aptes à traiter une infection à érythrovirus variant
(sérothérapie, anticorps monoclonaux).

Les Inventeurs se sont donc donné pour but de pourvoir à des
15 séquences issues d'érythrovirus, aptes à permettre la détection d'un érythrovirus
variant (dénommé érythrovirus de type V9), c'est-à-dire génétiquement éloigné de
l'érythrovirus B19.

La présente invention a pour objet une séquence d'acide nucléique,
caractérisée en ce qu'elle est sélectionnée dans le groupe constitué par :

- 20 - les séquences issues d'un érythrovirus, qui, moléculairement, ne
peut être reconnu comme un érythrovirus B19 car présentant une divergence ou
distance génétique $\geq 10\%$ ($< 90\%$ de similitude) sur l'ensemble du génome par
rapport aux séquences de l'érythrovirus B19 et présentant une divergence génétique
inférieure ou égale à 6% ($> 94\%$ de similitude) par rapport à la séquence SEQ ID
25 NO:1,

- la séquence SEQ ID NO:1 et
- les séquences nucléotidiques capables de s'hybrider en conditions
stringentes avec ladite séquence ID NO:1.

Cet érythrovirus variant est dénommé variant de type V9.

30 On entend par conditions stringentes, au sens de la présente
invention, les conditions suivantes :

. hybridation pendant 3 à 24 h dans un tampon 1XSSC contenant 50 % de formamide, à 42°C et

. 3 lavages de 15 min dans un tampon 2XSSC, à 60°C.

La séquence SEQ ID NO:1, qui correspond à environ 95 % du
 5 génome d'un érythrovirus de type V9 et qui inclut toutes les séquences codantes, présente une carte de restriction différente de celle des érythrovirus B19, notamment pour ce qui concerne les sites BamHI (aucun site), HindIII (un seul site) et PvuII (cinq sites).

De manière plus précise, la séquence SEQ ID NO:1 présente un
 10 profil de restriction différent de celui de l'érythrovirus B19, notamment par les sites de restriction suivants : Acc I, Afl III, Alw I, AlwN I, **Apa I**, Ava I, Ava II, Avr II, **BamH I**, Ban I, Ban II, Bbe I, Bbs I, BceF I, Bcg I, Bcn I, **Bgl II**, Bsg I, BsiE I, Bsm I, BsmA I, Bsp120 I, BspH I, BspM I, BsrF I, Bst1107 I, BstE II, BstU I, Bsu36 I, Dpn I, Dra III, Dsa I, Eae I, Eag I, Ear I, Ecl136 I, EcoN I, Eco109 I, EcoR I, Ehe I,
 15 Fok I, Hae I, Hae III, Hga I, HgiA I, Hha I, Hinc II, **Hind III**, HinP I, Hpa I, Kas I, Mae II, Mbo I, Mcr I, Msc I, **Mun I**, Nar I, Nci I, Nco I, Nsi I, Nsp I, Nsp7524 I, NspB II, NspC I, PflM I, Pme I, Ppu10 I, PpuM I, Pst I, **Pvu II**, Sac I, Sau3A I, Sca I, SfaN I, Sfc I, Sma I, Spe I, Sph I, Ssp I, Stu I, Sty I, Swa I, Tth111 I, Xba I, Xma I et leurs isoschizomères.

20 La présente invention a également pour objet des fragments de la séquence ID NO:1, aptes à permettre la détection d'un érythrovirus V9 et caractérisés en ce qu'ils comprennent une séquence nucléotidique sélectionnée dans le groupe constitué par :

- a) une séquence correspondant aux positions 328-2340 de la SEQ ID NO:1, codant
 25 pour la protéine NS1 (SEQ ID NO:81),
- b) une séquence correspondant aux positions 1796-2017 de la SEQ ID NO:1, codant pour la protéine de 7,5 kDa (SEQ ID NO:83),
- c) une séquence correspondant aux positions 2336-4678 de la SEQ ID NO:1, codant pour la protéine VP1 (SEQ ID NO:85),
- 30 d) une séquence correspondant aux positions 2336-3016 de la SEQ ID NO:1, codant pour la protéine VP1u (SEQ ID NO:87),

- e) une séquence correspondant aux positions 2523-2828 de la SEQ ID NO:1, codant pour la protéine X (SEQ ID NO:89),
- f) une séquence correspondant aux positions 3017-4678 de la SEQ ID NO:1, codant pour la protéine VP2 (SEQ ID NO:91),
- 5 g) une séquence correspondant aux positions 4488-4883 de la SEQ ID NO:1, codant pour la protéine de 11 kDa (SEQ ID NO:93),
- h) une séquence nucléotidique capable de s'hybrider avec l'une des séquences SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:91 ou SEQ ID NO:93,
- 10 i) les séquences SEQ ID NO:2-80,
- j) les séquences SEQ ID NO:105 (E1905f), 106 (E1987r), 107 (E2076f), 108 (E2151r), 109 (E2406r), 110 (E2149rs), 111 (E2717f), 112 (E2901r), 113 (e1855f), 114 (e2960r), 115 (e1863f), 116 (e2953), 117 (e2435fStuI/BglII), 118 (e4813rEcoRI), 119 (e3115fBamHI), 120 (e4813rBamHI) et 121 (e1954fp) et
- 15 k) les séquences complémentaires des séquences précédentes, les fragments issus des séquences précédentes d'au moins 17 nucléotides ou leurs séquences complémentaires.

Au sens de la présente invention, on entend par séquence nucléique ou séquence nucléotidique (séquence d'ADN ou d'ARN), l'une des séquences, telles
20 que définies ci-dessus et leurs séquences complémentaires (séquences anti-sens) ainsi que les séquences comprenant une ou plusieurs desdites séquences ou fragments de celles-ci.

L'invention englobe également des fragments nucléotidiques complémentaires des précédents ainsi que des fragments modifiés par rapport aux pré-
25 cédents, par enlèvement ou addition de nucléotides dans une proportion d'environ 15 %, par rapport à la longueur des fragments ci-dessus et/ou modifiés au niveau de la nature des nucléotides, dès lors que les fragments nucléotidiques modifiés conservent une capacité d'hybridation avec la séquence d'ADN ou d'ARN d'érythrovirus V9, analogue à celle que présentent les fragments correspondants non modifiés.

30 Certains de ces fragments sont spécifiques et sont utilisés comme sonde ou amorce ; ils s'hybrident spécifiquement à un érythrovirus V9 ou un érythro-

virus apparenté ; on entend par virus apparenté à l'érythrovirus V9, un érythrovirus présentant une divergence génétique \leq ou égale à 6 % ; ces fragments sont sélectionnés dans le groupe constitué par les séquences SEQ ID NO:45-80 et NO:108 et 110, ou leurs séquences complémentaires, les séquences issues de ces séquences
5 d'au moins 17 nucléotides et les séquences comprenant lesdites séquences et trouvent application dans l'identification spécifique d'un érythrovirus V9 ou d'un érythrovirus apparenté.

D'autres de ces fragments sont utilisés en tant qu'amorces, pour l'amplification de séquences issues d'un érythrovirus de type V9 ou apparenté, telle
10 que la séquence SEQ ID NO:1 ; ces amorces sont choisies dans le groupe constitué par les séquences SEQ ID NO:2-44 et les séquences SEQ ID NO:105-109 et 111-121 ou leurs séquences complémentaires et les séquences issues desdites séquences, d'au moins 17 nucléotides.

Lesdits fragments incluent également, lorsqu'il s'agit d'amorces, les
15 séquences anti-sens.

De telles séquences trouvent application pour l'identification différentielle des érythrovirus (érythrovirus B19 et érythrovirus V9), associées avec des sondes telles que définies ci-dessus et/ou à des enzymes de restriction convenables.

Lesdites amorces comprennent de préférence entre 17 et 30 nucléo-
20 tides ; des amorces préférées, sont les suivantes : la séquence SEQ ID NO:105 positions 1797-1815 de la séquence SEQ ID NO:1), qui correspond à un fragment de la séquence SEQ ID NO:10, la séquence SEQ ID NO:106 (positions 1899-1879 de la séquence SEQ ID NO:1), qui correspond à un fragment de la séquence anti-sens de la séquence SEQ ID NO:11, la séquence SEQ ID NO:107 (positions 1968-1987 de la
25 séquence SEQ ID NO:1), qui correspond à un fragment de la séquence SEQ ID NO:13, la séquence SEQ ID NO:108 (positions 2061-2043 de la séquence SEQ ID NO:1), qui correspond à un fragment de la séquence anti-sens de la séquence SEQ ID NO:58, la séquence SEQ ID NO:109 (positions 2317-2298 de la séquence SEQ ID NO:1), qui correspond à un fragment de la séquence anti-sens de la séquence SEQ ID
30 NO:16, la séquence SEQ ID NO:111 (positions 2609-2627 de la séquence SEQ ID NO:1), qui correspond à un fragment de la séquence SEQ ID NO:19 et la séquence

SEQ ID NO:112 (positions 2812-2793 de la séquence SEQ ID NO:1), qui correspond à un fragment de la séquence anti-sens de la séquence SEQ ID NO:23.

Des paires d'amorces préférées sont les suivantes :

- paire A : amorces SEQ ID NO:111 et SEQ ID NO:112 ;
- 5 - paire B : amorces SEQ ID NO:105 et SEQ ID NO:106 ;
- paire C : l'une des séquences SEQ ID NO :2-44, 105, 106, 107, 109, 111 ou 112 et l'une des séquence SEQ ID NO:45-80, 108 ou 110 ;
- paire D : amorce SEQ ID NO:107 et amorce SEQ ID NO:109 ;
- paire E : deux amorces sélectionnées parmi les séquences SEQ ID
10 NO:2-44, 105, 106, 107, 109, 111 ou 112 ;
- paire F : deux amorces sélectionnées parmi les séquences SEQ ID NO:45-80, 108 ou 110.

Ces différentes amorces peuvent être utilisées, selon le fragment amplifié, comme amorce sens ou comme amorce anti-sens.

- 15 La présente invention a également pour objet un érythrovirus variant, caractérisé en ce que son génome ne peut être reconnu moléculairement comme un érythrovirus B19, en ce qu'il présente une divergence $<$ ou égale à 6 % avec la séquence SEQ ID NO :1, telle que définie ci-dessus et en ce que son génome s'hybride spécifiquement, dans des conditions stringentes, telles que celles définies ci-
- 20 dessus, avec l'une des séquences SEQ ID NO:45 à 80, 108 et 110, telle que définie ci-dessus.

- La présente invention a également pour objet un plasmide, caractérisé en ce qu'il comprend le génome viral d'une souche d'érythrovirus variant, dénommée érythrovirus V9 ou un fragment de celui-ci, ne pouvant être reconnue
- 25 moléculairement comme un érythrovirus B19 et présentant avec ce dernier une divergence génétique ≥ 10 % sur l'ensemble du génome par rapport aux séquences de l'érythrovirus B19 et une divergence $<$ ou égale à 6 % avec la séquence SEQ ID NO :1.

- Le génome viral dudit érythrovirus V9 est considéré comme
- 30 génétiquement éloigné de l'érythrovirus B19.

Selon un mode de réalisation avantageux dudit plasmide, il inclut la séquence SEQ ID NO:1 (PCD.V9.C22).

La présente invention a également pour objet un réactif de diagnostic pour la détection différentielle des érythrovirus de type V9, caractérisé en ce qu'il est
5 sélectionné parmi les séquences SEQ ID NO:45-80, 108 et 110, éventuellement marquées avec un marqueur approprié.

Parmi les marqueurs appropriés, on peut citer, les isotopes radioactifs, les enzymes, les fluorochromes, des marqueurs chimiques (biotine...), les haptènes (digoxygénine...) et les anticorps ou analogues de bases appropriées.

10 La présente invention a également pour objet un procédé de détection rapide et différentiel des érythrovirus, par hybridation et/ou amplification génique, réalisé à partir d'un échantillon biologique, lequel procédé est caractérisé en ce qu'il comprend :

(1) une étape dans laquelle l'on met en contact un échantillon biologique à analyser avec au moins une sonde de séquence SEQ ID NO:45-80, 108 ou 110
15 et

(2) une étape dans laquelle on détecte par tout moyen approprié le ou les produits résultant de l'interaction séquence nucléotidique d'érythrovirus-sonde.

De manière préférée, l'hybridation comprend une préhybridation,
20 qui est réalisée dans un tampon qui comprend 5-60 % de formamide ; 1-5X SSC ; 2 % de réactif de blocage (*Blocking buffer*, Boehringer Mannheim, Meylan, France) ; 0,1 % de N-lauryl sarcosine ; 0,01-5 % de SDS, à 40-70°C pendant 90 minutes, puis l'hybridation est réalisée dans 3 ml d'un tampon de même composition avec 10 µl de sonde marquée à 40-70°C pendant 1-30 heures.

25 Conformément audit procédé, il peut comprendre, préalablement à l'étape (1) :

. une étape d'extraction de l'acide nucléique à détecter, appartenant au génome du virus, éventuellement présent dans l'échantillon biologique, et
. au moins un cycle d'amplification génique.

30 L'étape d'amplification génique est notamment réalisée à l'aide d'une des techniques d'amplification génique suivante : amplification par la Q β -

réplicase (I. Haruna et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1965, 54, 579-587), PCR (réaction de polymérisation en chaîne) (R.K. Saiki et al., 1986, Nature, 324:163-6), LCR (*ligase chain reaction*) (F. Barany, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1991, 88, 189-193), ERA (*end-run amplification*) (C. Adams et al., 1994, *Novel amplification technologies for DNA/RNA-based diagnostics meeting*, San Francisco, CA, Etats-Unis), CPR (*cycling probe reaction*) (P. Duck et al., Biotechniques, 1990, 9, 142-147) ou SDA (*strand displacement amplification*) (GT. Walker, 1994, *SDA: novel amplification technologies for DNA/RNA-based diagnostics meeting*, San Francisco, CA, Etats-Unis).

10 Selon un mode de mise en œuvre avantageux dudit procédé, les cycles d'amplification sont réalisés à l'aide d'une paire d'amorces sélectionnée parmi les séquences SEQ ID NO:2-44, 105-109 et 111-112 et les fragments de ces séquences, de manière préférée parmi les paires d'amorces telles que définies ci-dessus.

15 Lorsque l'on utilise la paire A, le produit d'amplification est avantageusement criblé par action de l'enzyme de restriction Apa I (GGGCCC) : le produit d'amplification d'un génome B19 est clivé par Apa I (générant 2 fragments de 149 et 55 paires de bases (pb)) alors que le produit d'amplification d'un génome V9 n'est pas clivé par Apa I (un fragment de 204 pb) ; une électrophorèse sur gel d'agarose ou
20 d'acrylamide permet de distinguer ces fragments de restriction.

Lorsque l'on utilise la paire B, le produit d'amplification est avantageusement criblé par action de l'une des enzymes de restrictions suivantes : BglII (AGATCT), ou MunI (CAATTG) ; on obtient ainsi différents fragments selon qu'il s'agit d'un érythrovirus V9 ou B19 ; un fragment qui comprend un site de restriction
25 BglII est spécifique de l'érythrovirus V9 variant tel que défini ci-dessus, alors que les érythrovirus B19 comprennent dans cette zone, un site MunI. Le produit d'amplification d'un génome B19 est clivé par MunI (générant 2 fragments de 36 et 67 pb) et n'est pas clivé par BglII (un fragment de 103 pb) alors que le produit d'amplification d'un génome V9 est clivé par BglII (2 fragments de 19 et 84 pb) et
30 n'est pas clivé par MunI (un fragment de 103 pb) ; une électrophorèse sur gel d'agarose ou d'acrylamide permet de distinguer ces différents fragments de restriction.

Lorsque l'on utilise la paire C (une amorce apte à hybrider avec tous les érythrovirus et une amorce apte à hybrider de manière spécifique avec l'érythrovirus V9) ou la paire F (deux amorces aptes à hybrider de manière spécifique avec l'érythrovirus V9), le génome V9 est amplifié alors qu'il n'y a pas d'amplification spécifique avec le génome B19.

Lorsque l'on utilise la paire D, le produit d'amplification est avantageusement criblé par hybridation avec une sonde spécifique marquée de l'érythrovirus V9, sélectionnée parmi les séquences SEQ ID NO:58-60 et 110, de préférence par hybridation avec la sonde de séquence SEQ ID NO:110 ; le produit d'amplification d'un génome V9 hybride de manière spécifique avec ces sondes et notamment la sonde de séquence SEQ ID NO:110, alors que le produit d'amplification d'un génome B19 n'hybride pas avec les sondes précitées.

Lorsque l'on utilise la paire E, le produit d'amplification est criblé par tout procédé d'hybridation avec une sonde spécifique de l'érythrovirus V9 sélectionnée parmi les séquences SEQ ID NO:45-80, 108 et 110 ; dans ce cas, le produit d'amplification d'un génome V9 hybride avec la sonde, mais pas le produit d'amplification d'un génome B19.

L'invention a également pour objet l'utilisation des séquences décrites ci-dessus, de fragments issus de ces séquences ou de leurs complémentaires, pour la mise en oeuvre d'un procédé d'hybridation ou d'amplification génique de séquence nucléiques d'érythrovirus, ces procédés étant applicables au diagnostic *in vitro* de l'infection potentielle d'un individu par un érythrovirus de type V9.

La présente invention a également pour objet un procédé de criblage et de typage d'un érythrovirus V9 ou apparenté, caractérisé en ce qu'il comprend la mise en contact d'une sonde sélectionnée dans le groupe constitué par les séquences SEQ ID NO:45-80, 108 et 110, éventuellement marquée, avec l'acide nucléique du virus à typer et la détection de l'hybride acide nucléique-sonde obtenu.

La présente invention a également pour objet des produits de traduction, caractérisés en ce qu'ils sont codés par une séquence nucléotidique telle que définie ci-dessus.

La présente invention a également pour objet une protéine, caractérisée en ce qu'elle est notamment susceptible d'être exprimée à l'aide d'une séquence nucléotidique sélectionnée dans le groupe constitué par les séquences SEQ ID NO: 81, 83, 85, 87, 89, 91 et 93, telles que définies ci-dessus et les peptides dérivés
5 comprenant entre 7 et 50 amino-acides.

On entend par peptide, ci-après, aussi bien les protéines que les peptides, tels que définis ci-dessus.

De tels peptides sont notamment aptes à être reconnus par des anticorps induits par un érythrovirus V9 et/ou à induire la production d'anticorps anti-
10 érythrovirus V9.

Lesdits peptides sont notamment sélectionnés parmi les séquences SEQ ID NO:82 (protéine NS1), SEQ ID NO:86 (protéine VP1), SEQ ID NO:88 (protéine VP1 unique), SEQ ID NO:92 (protéine VP2) et SEQ ID NO:95-104, à savoir des fragments de la protéine VP1 [peptide VP1a (SEQ ID NO:95) ; peptide VP1b
15 (SEQ ID NO:96) ; peptide VP1c (SEQ ID NO:97) peptide VP1d (SEQ ID NO:98) ; peptide VP1e (SEQ ID NO:99 et peptide VP1f (SEQ ID NO:100)], ou des fragments de la protéine VP2 [peptide VP2a (SEQ ID NO:101) ; peptide VP2b (SEQ ID NO:102) ; peptide VP2c (SEQ ID NO:103) ; peptide VP2d (SEQ ID NO:104] ainsi que les peptides dérivés comprenant 7 à 50 aminoacides.

20 L'invention a également pour objet des compositions immunogènes comprenant un ou plusieurs produits de traduction des séquences nucléotidiques selon l'invention et/ou l'un des peptides tels que définis ci-dessus, obtenus, notamment de manière synthétique.

L'invention a également pour objet les anticorps dirigés contre l'un
25 ou plusieurs des peptides décrits ci-dessus et leur utilisation pour la mise en œuvre d'une méthode de diagnostic *in vitro*, notamment différentielle de l'infection d'un individu par un érythrovirus.

La présente invention a également pour objet un procédé de détection immunologique d'une infection à érythrovirus V9, caractérisé en ce qu'il
30 comprend :

- pour la détection des anticorps anti-érythrovirus V9, la mise en contact d'un échantillon biologique avec un peptide selon l'invention (sérodiagnostic),

- pour la détection des protéines virales d'érythrovirus V9, la mise en contact d'un échantillon biologique avec un anticorps selon l'invention ;

5 la lecture du résultat étant révélée par un moyen approprié, notamment EIA, ELISA, RIA, fluorescence.

A titre d'illustration, une telle méthode de diagnostic *in vitro* selon l'invention comprend la mise en contact d'un échantillon biologique prélevé chez un patient, avec des anticorps selon l'invention ou des peptides selon l'invention, et la
10 détection à l'aide de tout procédé approprié, notamment à l'aide d'anti-immunoglobulines marquées, des complexes immunologiques formés entre les antigènes ou les anticorps des érythrovirus éventuellement présents dans l'échantillon biologique et lesdits anticorps ou lesdits peptides, respectivement.

Les réactifs selon l'invention sont notamment utiles pour la
15 détection des érythrovirus V9 et apparentés chez les femmes enceintes, chez les patients VIH-positifs présentant une anémie et/ou une thrombopénie chronique, les greffés d'organe ou de moelle, et les patients présentant une anémie aiguë centrale et dont les tests de détection de l'érythrovirus B19 sont négatifs.

L'invention a en outre pour objet une trousse de diagnostic
20 d'érythrovirus, caractérisée en ce qu'elle inclut au moins un réactif selon l'invention (sondes, paires d'amorces, peptides ou anticorps).

Outres les dispositions qui précèdent, l'invention comprend encore d'autres dispositions, qui ressortiront de la description qui va suivre, qui se réfère à des exemples de mise en œuvre du procédé objet de la présente invention ainsi qu'aux
25 dessins annexés, dans lesquels :

- les figures 1, 2 et 3 illustrent les arbres phylogénétiques de l'érythrovirus V9 : figure 1 : arbre phylogénétique de la séquence complète d'érythrovirus ; figure 2 : arbre phylogénétique des gènes NS1 d'érythrovirus ; figure 3 : arbre phylogénétique des gènes VP1 d'érythrovirus ;

- les figures 4, 5 et 6 représentent les distances génétiques des séquences complètes d'érythrovirus (figure 4), des gènes NS1 (figure 5) et des gènes VP1 (figure 6) d'érythrovirus.

- la figure 7 illustre la carte de restriction de la séquence ID NO:1.

5 Il doit être bien entendu, toutefois, que ces exemples sont donnés uniquement à titre d'illustration de l'objet de l'invention, dont ils ne constituent en aucune manière une limitation.

EXEMPLE 1 : Obtention des séquences conformes à l'invention.

Un fragment de restriction Aat II/Aat II de 5 028 pb représentant la
10 quasi totalité (95 %) du génome du variant V9 a été cloné dans le vecteur de séquençage pcDNA2.1 (Invitrogen, Netherlands) de la façon suivante.

L'ADN viral simple brin est extrait du sérum d'un patient présentant une crise érythroblastopénique aiguë à l'aide d'une colonne QIAamp Blood Kit (Qiagen S.A., France). Par une étape d'hybridation dans un tampon NaCl 50 mM à
15 56°C pendant 16 heures, l'ADN viral est transformé en ADN double brin. Puis 1,3 µg d'ADN viral double brin est soumis à l'enzyme de restriction Aat II (18 U) à 37°C pendant 2 heures, l'enzyme de restriction est ensuite inactivée à 65°C pendant 15 minutes. Le produit est dialysé sur membrane d'acétate et de nitrate de cellulose Millipore® VSWPO13000 contre de l'eau pendant 2 heures. Le fragment de restriction
20 Aat II/Aat II d'ADN viral double brin ainsi préparé est congelé à -20°C en attendant l'étape de ligation.

Le vecteur pcDNA2.1 est modifié pour recevoir le fragment Aat II par mutagenèse dirigée insertionnelle : le site de restriction Eag I du multisite de clonage a été supprimé et remplacé par un site Aat II. Le vecteur pcDNA2.1a, ainsi
25 produit, est amplifié en culture bactérienne et purifié à l'aide d'un QIAfilter Plasmid Maxi Kit (Qiagen S.A., France). Puis 3 µg du vecteur pcDNA2.1a est soumis à une restriction par l'enzyme Aat II à 37°C pendant 1 heure, puis déphosphorylé par la phosphatase alcaline de crevette (Boehringer Mannheim, Meylan France). Les enzymes sont inactivées à 65°C pendant 15 minutes.

30 La ligation est réalisée avec un rapport molaire vecteur/ insert d'ADN viral de 1/1 soit 50 ng de vecteur et 100 ng d'insert d'ADN viral, préparés

comme décrits ci-dessus, à l'aide de 1 U de ligase T4 (Life Technologies, France) à 24 °C pendant 16 heures. Après dilution au 1/2, le produit de ligation est chauffé à 65°C pour inactiver la ligase T4 puis refroidi sur de la glace. Des bactéries électro-compétentes Sure® (Stratagene, Heidelberg Allemagne) sont électroporées avec 2 ou
5 4 µl de cette solution de ligation (1500 V, 50 µF, 200 Ω) puis mises à incuber avec 1 ml de milieu SOC (Life Technologies, France) pendant 1 heure avant d'être étalées sur un milieu gélosé Luria Broth (Life Technologies, France) contenant 100 µg/ml d'amoxycilline, 15 µg/ml de tétracycline, 100 µg/ml d'IPTG et 50 µg/ml de X-gal.

Vingt quatre colonies blanches (recombinantes) ont été sélection-
10 nées ; leur plasmide est extrait par minipréparation d'ADN et une carte de restriction sommaire (Aat II, Aat II + BamH I, BamH I, BamH I + Bgl II, Hind II) a permis de sélectionner 2 clones recombinants avec un insert de taille et de carte de restriction compatibles avec un insert d'ADN viral V9.

Ces 2 clones (2 et 22) ont été séquencés à l'aide d'un séquenceur
15 automatique ABI 377 (Perkin Elmer, France) : ils contiennent bien un insert de 5 028 pb, les 2 séquences sont identiques sauf à la position 1165 (A et G pour les clones 2 et 22 respectivement). La séquence directe de l'ADN viral V9 a permis de déterminer que c'est le G en position 1165 qui est correct, c'est donc le clone 22 qui a été sélectionné (PCD.V9.C22), dont la séquence correspond à SEQ ID NO:1.

20 Les figures 1 à 6 montrent les distances génétiques qui existent entre l'érythrovirus V9 et l'érythrovirus B19. Dans ces figures, les différentes séquences d'érythrovirus sont représentées par leur mnémonique dans GeneBank (*release* 103.0 d'octobre 1997).

EXEMPLE 2 : Diagnostic d'un érythrovirus de type V9 par hybridation ADN
25 (dot blot ou slot blot ou microplaque) avec une sonde spécifique.

L'ADN viral est extrait par exemple à l'aide d'une colonne QIAamp
Blood Kit (Qiagen S.A., France) ou de tout autre procédé d'extraction des acides
nucléiques à partir d'un prélèvement biologique (sang, sérum, plasma, liquide amnio-
tique, moelle osseuse, tissus). L'ADN en solution est dénaturé à 95°C pendant 2
30 minutes puis refroidi sur de la glace, transféré sur membrane de Nylon ou d'acétate de
cellulose par filtration sous vide, puis fixé (chauffage de la membrane à 80°C pendant

1 heure). La membrane est ensuite hybridée en conditions stringentes avec une sonde ADN ou ARN spécifique de V9, telle que la séquence SEQ ID NO:1 ou son complémentaire ou un fragment de celle-ci, en particulier les séquences SEQ ID NO:45 à SEQ ID NO:80 et 110 ou leur complémentaire, ou un fragment de ces
5 séquences marquées de manière appropriée. Ce marquage peut être un marquage avec un radio-élément (^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^3H , ^{14}C ou un autre radio-isotope), un marquage froid (biotine, marqueur fluorescent, digoxygénine ou tout autre molécule pouvant être couplée ou incorporée dans un fragment d'ADN ou d'ARN et pouvant être détectée par un anticorps spécifique, ou par un chélate de ruthénium). Dans le cas d'un marquage
10 par un élément radioactif, la révélation est effectuée par auto-radiographie ou tout autre procédé permettant la détection de l'émission du radio-isotope (tel que le Phosphorimager, Molecular Dynamics, Bondoufle, France). Dans le cas d'un marquage à la biotine, la révélation est effectuée à l'aide d'un conjugué enzyme/streptavidine et un substrat de révélation adapté. Dans le cas d'un marquage
15 fluorescent, la révélation se fait à l'aide d'un fluoro-Imager (Molecular Dynamics, Bondoufle, France) ou de tout autre appareil capable de détecter l'émission de fluorescence. Dans le cas d'un marquage à la digoxygénine (ou avec un autre antigène) la révélation se fait à l'aide d'un anticorps anti-digoxygénine (ou spécifique de l'antigène utilisé pour le marquage), couplé directement à une enzyme (phosphatase
20 alcaline, peroxydase ou toute autre enzyme), ou de manière indirecte par un anticorps anti-digoxygénine (ou spécifique de l'antigène utilisé pour le marquage) et un anti-anticorps couplé à une enzyme. Un substrat adapté à l'enzyme du conjugué est utilisé pour la révélation. Dans le cas d'un marquage par chélate de ruthénium (comme le TBR) la révélation s'effectue par une réaction d'électrochemiluminescence (G.F.
25 Blackburn et al., Clin. Chem., 1991, 37:1534-1539).

Une variante de cette technique comprend la fixation de l'ADN viral sur micro-plaque ou un autre support solide et l'hybridation avec une sonde marquée comme précisé ci-dessus.

Une autre variante de cette technique comprend la fixation d'une
30 sonde non marquée sur une micro-plaque ou un autre support solide et l'hybridation avec l'ADN viral de l'échantillon qui aura été préalablement marqué.

EXEMPLE 3 : Diagnostic d'un érythrovirus de type V9 par amplification génique (PCR ou *polymerase chain reaction*) et hybridation :

On extrait de l'ADN viral à partir d'un échantillon biologique (sang, sérum, plasma, liquide amniotique, moelle osseuse, tissus), à l'aide d'une colonne
5 QIAamp Blood Kit (Qiagen S.A., France) ou de tout autre procédé d'extraction des acides nucléiques.

La PCR est réalisée selon la méthode décrite par Saiki et al. (Nature, 1986, 324:163-66) avec 10 µl de solution d'ADN dans un volume final de 100 µl de mélange réactionnel (50 mM KCl ; 10 mM Tris-HCl pH 8,3 ; 2,5 mM MgCl₂ ; 200
10 µM dNTP; 25 pmoles d'oligonucléotides sens et anti-sens) avec 1,5 UI d'AmpliTaq Gold TM (Perkin Elmer, France). Les amorces d'amplification sont des oligonucléotides de 20 à 25 mers choisis pour n'amplifier que l'ADN du variant V9 : soit les 2 amorces (sens et anti-sens) sont des fragments des séquences spécifiques du V9 (SEQ ID NO:45 à 80, 108 et 110) ou leurs complémentaires, soit l'une des amorces
15 est choisie parmi ces séquences spécifiques du V9 (SEQ ID NO:45-80, 108 et 110) ou leurs complémentaires tandis que l'autre amorce est choisie parmi les séquences aptes à hybrider aussi bien les érythrovirus B19 que les érythrovirus V9 (SEQ ID NO:2 à 44, 105-107, 109 et 111-112) ou leurs complémentaires. Les cycles de températures sont imposés au mélange réactionnel par un thermocycleur (T9600, Perkin Elmer,
20 France) selon le programme suivant :

1 cycle :

- 6 minutes à 95°C

5 cycles :

- 60 secondes à 95°C

25 - 30 secondes à 60°C

- 30 secondes à 72°C

45 cycles :

- 30 secondes à 95°C

- 30 secondes à 60°C

30 - 30 secondes à 72°C

1 cycle :

- 5 minutes à 72°C

Le produit d'amplification est déposé sur un gel d'agarose à 1,3 % pour subir une séparation électrophorétique et un transfert sur une membrane de Nylon chargée par capillarité selon une technique classique (Sambrook J. et al., 1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor).

La sonde est un oligonucléotide de 20-30 mers, fragment d'une séquence spécifique du V9 (SEQ ID NO:45 à 80, 108 et 110) ou leurs complémentaires. Elle est marquée en 3' par du DIG-dUTP à l'aide du kit DIG *Oligonucleotide Tailing* (Boehringer Mannheim, Meylan, France).

La membrane de transfert est préhybridée dans un tampon comprenant (50 % formamide ; 5X SSC ; 2 % de réactif de blocage (Boehringer Mannheim, Meylan, France) ; 0,1 % de N-lauryl sarcosine ; 0,02 % de SDS), à 42°C pendant 90 minutes. L'hybridation est réalisée dans 3 ml d'un tampon de même composition avec 10 µl de sonde marquée à 42°C pendant 16 heures. La membrane est lavée 2 fois en tampon 2X SSC ; 0,1 % SDS à 60°C pendant 10 minutes, puis 2 fois en tampon 1X SSC ; 0,1 % SDS à 60°C pendant 10 minutes. La membrane est ensuite révélée avec le DIG *Luminescent Detection Kit* (Boehringer Mannheim, Meylan, France) et une autoradiographie.

EXEMPLE 4 : Diagnostic de groupe et diagnostic différentiel des érythrovirus de type B19 et V9 par amplification génique et hybridation:

On extrait de l'ADN viral à partir d'un échantillon biologique (sang, sérum, plasma, liquide amniotique, moelle osseuse, tissus) à l'aide d'une colonne QIAamp Blood Kit (Qiagen S.A., France) ou de tout autre procédé d'extraction des acides nucléiques.

La PCR est réalisée selon la méthode décrite par Saiki et al. (Nature, 1986, précité) avec 10 µl de la solution d'ADN dans un volume final de 100 µl de mélange réactionnel (50 mM KCl ; 10 mM Tris-HCl pH 8,3 ; 2,5 mM MgCl₂ ; 200 µM dNTP ; 25 pmoles d'oligonucléotides sens et anti-sens) avec 1,5 UI d'AmpliTaQ Gold™ (Perkin Elmer, France). Les amorces d'amplification sont des oligonucléotides

de 20 à 25 mers choisis pour amplifier l'ADN du B19 et du variant V9 : les 2 amorces (sens et anti-sens) sont des fragments des séquences aptes à s'hybrider aussi bien avec les érythrovirus B19 qu'avec les érythrovirus V9 (SEQ ID NO:2 à 44, 105-107, 109, 111-112) ou de leurs complémentaires. Les cycles de températures sont imposés au mélange réactionnel par un thermocycleur (T9600, Perkin Elmer, France) selon le programme suivant :

1 cycle :

- 6 minutes à 95°C

5 cycles :

- 60 secondes à 95°C

- 30 secondes à 60°C

- 30 secondes à 72°C

45 cycles :

- 30 secondes à 95°C

- 30 secondes à 60°C

- 30 secondes à 72°C

1 cycle :

- 5 minutes à 72°C

Le produit d'amplification est déposé sur un gel d'agarose à 1,3% pour subir une séparation électrophorétique et un transfert sur une membrane de Nylon chargée par capillarité selon une technique classique (J. Sambrook et al., 1989, précité).

La sonde est un oligonucléotide de 20-30 mers, fragment d'une séquence spécifique du V9 (SEQ ID NO:45-80, 108 et 110) ou de leurs complémentaires, ou bien spécifique du B19, ou enfin qui s'hybride aussi aux B19 qu'aux V9 (SEQ ID NO:2 à 44 ou 105-107, 109, 111-112), si on cherche à réaliser un diagnostic de groupe. Elle est marquée en 3' par du DIG-dUTP à l'aide du kit DIG oligonucleotide tailing (Boehringer Mannheim, Meylan, France).

La membrane de transfert est préhybridée et hybridée dans les mêmes conditions que celles exposées à l'exemple 3.

EXEMPLE 5 : Diagnostic de groupe et diagnostic différentiel des érythrovirus de type B19 et V9 par amplification génique et enzymes de restriction.

Extraction de l'ADN viral à partir d'un échantillon biologique (sang, sérum, plasma, liquide amniotique, moelle osseuse, tissus) à l'aide d'une colonne
5 QIAamp Blood Kit (Qiagen S.A., France) ou de tout autre procédé d'extraction des acides nucléiques.

La PCR NS1a est réalisée selon la méthode décrite par Saiki et al. avec 5 µl de la solution d'ADN dans un volume final de 50 µl de mélange réactionnel (50 mM KCl; 10 mM Tris-HCl pH 8,3; 2,5 mM MgCl₂; 200 µM dNTP; 12,5 pmoles
10 d'oligonucléotides sens et anti-sens) avec 1,5 UI d'AmpliTaq Gold™ (Perkin Elmer, France) et la paire d'amorce B (amorce sens e1905f, SEQ ID NO:105; et amorce antisens e1987r, SEQ ID NO:106) en utilisant les cycles de températures suivants (sur un thermocycleur T9700, Perkin Elmer, France) :

- 1 cycle :
15 6 minutes à 94°C
- 5 cycles :
30 secondes à 94°C
1 minute à 55°C
1 minute à 72°C
- 20 - 45 cycles :
30 secondes à 94°C
30 secondes à 60°C
30 secondes à 72°C
- 1 cycle :
25 7 minutes à 72°C

Un aliquot du produit d'amplification (10 µl) a été déposé sur un gel d'agarose à 2% pour subir une séparation électrophorétique et un transfert sur une membrane de nylon chargée par capillarité selon une technique classique (J. Sambrook et al., 1989, précité). La membrane a été hybridée avec une sonde oligonucléotidique
30 de 36 mer, e1954fp (SEQ ID NO:121) :

ACCAGTATCAGCAGCAGTGGTGGTGAAAGCTCTGAA, fragment de la séquence SEQ ID NO:11. Cette sonde permet une détection des érythrovirus de type B19 et V9.

Un aliquot du produit d'amplification (10 µl) a été soumis à l'action de l'enzyme de restriction Mun I pendant 2 heures puis soumis à une séparation électrophorétique sur un gel d'agarose à 2%. Comme précédemment décrit le type d'érythrovirus est B19 s'il y a clivage, et V9 s'il n'y a pas clivage.

Résultats de la PCR NS1a :

79 échantillons retrouvés indéterminés ou positifs faibles avec l'ancienne PCR B19 (Lefrere, et al., Transfusion, 1995, 35:389-391) ont été criblés à l'aide de la nouvelle PCR NS1a (érythrovirus consensus, séquences selon l'invention). Sur les 79 échantillons criblés, 31 sont positifs et ont été typés à l'aide de l'enzyme de restriction Mun I : 18 (58%) ont été retrouvés de type B19 et 13 (42%) de type V9.

Les échantillons positifs en PCR NS1a ont pu être amplifiés sur 1110 pb par une PCR nichée (PCR S1S2) à l'aide de la paire d'amorces e1855f (SEQ ID NO:113) et e2960r (SEQ ID NO:114) pour la première étape d'amplification de 30 cycles (PCRS1), et de la paire d'amorces e1863f (SEQ ID NO:115) et e2953r (SEQ ID NO:116) pour la deuxième étape d'amplification de 50 cycles (PCRS2). 15 échantillons ont été retrouvés positifs en PCR S1S2 et séquencés sur 1110 pb (13 de type B19 en PCR NS1A et 2 de type variant). L'analyse des séquences a montré que :

- les amorces B (amorce sens e1905f, SEQ ID NO:105; et amorce antisens e1987r, SEQ ID NO:106) sont parfaitement conservées pour toutes les 15 séquences (de type B19 et variant) ainsi que pour toutes les séquences de B19 connues, confirmant leur intérêt pour une utilisation pour un test de diagnostic consensus pour le B19 et le V9.

- la sonde e1954fp (SEQ ID NO:121), fragment de la séquence SEQ ID NO:11 est elle aussi bien conservée pour les 15 séquences ainsi que pour toutes les séquences de B19 connues,

- les séquences B19 forment un groupe bien homogène avec moins de 1,2% de divergence entre elles (7 séquences B19 de GenBank et les 13 séquences B19 de cette étude),

- enfin pour les 2 séquences typées érythrovirus variant par la PCR NS1a avec la digestion Mun I, moins de 4,5 %b de divergence avec V9 est observée.

EXEMPLE 6 : Clonage des gènes de capside VP1 et VP2 de V9 dans un vecteur d'expression baculovirus:

5 Première étape :

- clonage du gène VP1 dans un plasmide bactérien

Le gène VP1 de V9 est amplifié par PCR selon la méthode décrite par Saiki et al. (Nature, 1986, 324:163-166) avec 10 µl d'une dilution 10⁻² d'ADN viral V9 dans un volume final de 100 µl de mélange réactionnel (20 mM Tris-HCl pH 8,8 ; 10 mM KCl, 10 mM (NH₄)₂SO₄ ; 2 mM MgSO₄ ; 0,1% Triton X-100 ; 0,1 mg/ml de BSA ; 0,2 mM dNTP ; 25 pmoles d'amorces sens (e2435fStuI/BglII: AAAGGCCTAGATCTTGTAGATTATGAGTAAAAC, SEQ ID NO:117) et anti-sens (e4813rEcoRI: CGGAATTCGGTGGGTGACGGTTCCTG, SEQ ID NO:118)) avec 2,5 U de Pfu Turbo™ (Stratagene, France). Les amorces d'amplification ont été
15 choisies sur la séquence V9 de part et d'autre du gène VP1, leur extrémité 5' a été modifiée par addition de site(s) de restriction (indiqués dans leur dénomination) pour faciliter le clonage. Les cycles de températures imposés au mélange réactionnel sont les suivants :

1 cycle :

20 - 1 minute à 94°C

20 cycles :

- 1 minute à 94°C

- 1 minute à 55°C

- 2,5 minute à 72°C

25 1 cycle :

- 10 minute à 72°C

Le produit d'amplification du gène VP1 a été purifié à l'aide d'une colonne de silice (QIAquick PCR Purification Kit, Qiagen, France), puis soumis à l'action des enzymes de restriction Stu I et EcoR I. Après inactivation des enzymes de

restriction par la chaleur (20 min à 65°C), le fragment de gène VP1 a été purifié par dialyse contre H₂O sur filtre de 0,025 µm (VSWP01300, Millipore).

Le plasmide pBacPAK8 (Clontech, France) est soumis à l'action des enzymes de restriction Stu I et EcoR I, le vecteur est ensuite déphosphorylé par la phosphatase alcaline de crevette (Boehringer, France). Après inactivation des enzymes de restriction par la chaleur (20 min à 65°C), le plasmide a été purifié par QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen).

La ligation est réalisée avec 50 ng de plasmide pBacPAK8 et 100 ng de fragment VP1 (préparés comme précédemment décrit) avec la ligase de T4 (Life Technologies, France). Après inactivation de la ligase de T4 par la chaleur (10 min à 65°C), 2 µl de produit de ligation dilué au 1/2 avec de l'eau sont électroporés avec 25 µl de bactéries électrocompétentes (Epicurian Coli Sure Electroporation-Competent cells, Stratagene). Les bactéries électroporées sont immédiatement reprises dans 1 ml de milieu SOC (2% de tryptone, 0,5% d'extraits de levures, 10 mM NaCl, 2,5 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 10 mM MgSO₄ et 20 mM de glucose), incubées 1 h à 37°C sous agitation. Puis 10 µl, 100 µl et 890 µl des bactéries transformées sont étalés sur boîtes de gélose Lennox (10 g/l de peptone, 5 g/l d'extraits de levures, 5 g/l NaCl, et 13 g/l agar) contenant 50 µg/ml d'ampicilline. Après 24h d'incubation à 37°C, 24 colonies par constructions sont repiquées dans 5 ml de milieu Lennox avec 50 µg/ml d'ampicilline et incubées 24 h à 37°C sous agitation.

L'ADN plasmidique est extrait par minilyse alcaline à l'aide du kit QIAprep 8 Turbo miniprep (Qiagen) et analysé par restriction Stu I/EcoR I et Kpn I/Hind III afin de déterminer la présence de l'insert et son orientation. Le clone pB8-VP1.C5 a été sélectionné et le plasmide recombinant a été vérifiée par séquençage.

- clonage du gène VP2 dans un plasmide bactérien

Le gène VP2 de V9 est amplifié par PCR selon la méthode décrite par Saiki et al. (Nature, 1986, 324:163-166) avec 10 µl d'une dilution 10⁻² d'ADN viral V9 dans un volume final de 100 µl de mélange réactionnel (20 mM Tris-HCl pH 8,8; 10 mM KCl, 10 mM (NH₄)₂SO₄; 2 mM MgSO₄; 0,1% Triton X-100; 0,1 mg/ml de BSA; 0,2 mM dNTP; 25 pmoles d'amorces sens (e3115fBamHI :

CACGGATCCATACCCCAGCATGACTTCAG, SEQ ID NO:119) et anti-sens (e4813rBamHI: CACGGATCCGGTGGGTGACGGTTCCTG, SEQ ID NO:120)) avec 2,5 U de Pfu Turbo™ (Stratagene, France). Les amorces d'amplification ont été choisies sur la séquence V9 de part et d'autre du gène VP2, leur extrémité 5' a été
5 modifiée par addition de site(s) de restriction (indiqués dans leur dénomination) pour faciliter le clonage. Les cycles de températures imposés au mélange réactionnel sont les suivants :

1 cycle :

- 1 minute à 94°C

10

20 cycles :

- 1 minute à 94°C

- 1 minute à 60°C

- 2,5 minute à 72°C

1 cycle :

15

- 10 minute à 72°C

Le produit d'amplification du gène VP2 a été purifié à l'aide d'une colonne de silice (QIAquick PCR Purification Kit, Qiagen, France), puis soumis à l'action de l'enzymes de restriction BamH I. Le fragment de gène VP2 a été purifié par QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen).

20

Le plasmide pBacPAK8 (Clontech, France) est soumis à l'action de l'enzymes de restriction BamH I, le vecteur est ensuite déphosphorylé par la phosphatase alcaline de crevette (Boehringer, France). Après inactivation de la phosphatase alcaline de crevette par la chaleur (20 min à 65°C), le plasmide a été purifié par extraction au phénol/chloroforme et précipité à l'éthanol.

25

La ligation est réalisée avec 50 ng de plasmide pBacPAK8 et 100 ng de fragment VP2 (préparés comme précédemment décrit) avec la ligase de T4 (Life Technologies, France). Après inactivation de la ligase de T4 par la chaleur (10 min à 65°C), 2 µl de produit de ligation dilué au 1/2 avec de l'eau sont électroporés avec 25 µl de bactéries électrocompétentes (Epicurian Coli Sure Electroporation-Competent
30 cells, Stratagene). Les bactéries électroporées sont immédiatement reprises dans 1 ml de milieu SOC, incubées 1h à 37°C sous agitation. Puis 10 µl, 100 µl et 890 µl des

bactéries transformées sont étalés sur boîtes de gélose Lennox contenant 50 µg/ml d'ampicilline. Après 24h d'incubation à 37°C, 24 colonies par constructions sont repiquées dans 5 ml de milieu Lennox avec 50 µg/ml d'ampicilline et incubées 24 h à 37°C sous agitation.

- 5 L'ADN plasmidique est extrait par minilyse alcaline à l'aide du kit QIAprep 8 Turbo miniprep (Qiagen) et analysé par restriction BamH I et Sac I afin de déterminer la présence de l'insert et son orientation. Le clone pB8-VP2.C20 a été sélectionné et le plasmide recombinant a été vérifiée par séquençage: on note une base A déléetée juste en amont de l'ATG initiateur de VP2, mais cette mutation peut être
10 négligée: elle ne générera pas l'expression de VP2.

Deuxième étape :

- Construction du baculovirus recombinant exprimant VP1

- Le plasmide pB8-VP1.C5 est cotransfecté avec le baculovirus BacPAK6 linéarisé par Bsu361 (BacPAK™ Baculovirus Expression System,
15 Clontech) dans des cellules d'insecte SF9 par la lipofectine. 2 isollements sont effectués par la méthode des plages de lyse, les plages isolées sont transférées sur une membrane de nitro-cellulose, la membrane est ensuite hybridée avec une sonde ADN spécifique du gène VP1 du V9.

- Le baculovirus recombinant BacPAK6-pB8-VP1.C4.2 a ainsi été
20 sélectionné. Par *Western-blot* sur un culot cellulaire de cellules SF9 infectées par ce baculovirus recombinant, l'expression de la protéine VP1 a été vérifiée. On observe une bande à la taille attendue de VP1 (environ 80 kDa) mais qui n'est pas reconnue avec l'anticorps monoclonal anti-VP1-B19 (Argène, France). Il est possible que cet anticorps monoclonal ne donne pas de réaction croisée avec la protéine VP1 du V9.

- 25 Le clonage en baculovirus a été vérifié par séquençage après PCR par les amorces Bac1 et Bac2 (Clontech).

- Construction du baculovirus recombinant exprimant VP2

- Le plasmide pB8-VP2.C20 est cotransfecté avec le baculovirus BacPAK6 linéarisé par Bsu361 (BacPAK™ Baculovirus Expression System,
30 Clontech) dans des cellules d'insecte SF9 par la lipofectine. 2 isollements sont effectués par la méthode des plages de lyse, les plages isolées sont transférées sur une

membrane de nitro-cellulose, la membrane est ensuite hybridée avec une sonde ADN spécifique du gène VP2 du V9.

Le baculovirus recombinant BacPAK6-pB8-VP2.C1.3 est sélectionné. Par *Western-blot* sur un culot cellulaire de cellules SF9 infectées par ce
5 baculovirus recombinant, l'expression de la protéine VP2 a été vérifiée. L'anticorps monoclonal anti-VP2-B19 (Argène, France) détecte bien une protéine d'environ 58 kDa de poids moléculaire apparent qui est également bien visible sur le gel d'acrylamide. On observe en microscopie électronique des pseudoparticules virales d'environ 20 à 30 nm de diamètre dans les surnageants de culture des cellules SF9
10 après infection par un baculovirus recombinant exprimant la protéine VP2 du V9. La taille et l'aspect des pseudoparticules virales obtenues sont en tout point conformes à ceux décrits pour le B19. Cette observation confirme que la protéine VP2 du V9 est produite sous forme native par le baculovirus, car capable de former des capsides vides par auto-assemblage.

15 Le clonage en baculovirus a été vérifié par séquençage après PCR par les amorces Bac1 et Bac2 (Clontech).

Troisième étape :

Les protéines VP1 et VP2 de V9 exprimées en baculovirus seront purifiées afin d'être utilisées comme antigène cible pour de nouveaux tests
20 sérologiques pour le diagnostic des infections à érythrovirus V9.

Ainsi que cela ressort de ce qui précède, l'invention ne se limite nullement à ceux de ses modes de mise en œuvre, de réalisation et d'application qui viennent d'être décrits de façon plus explicite ; elle en embrasse au contraire toutes les variantes qui peuvent venir à l'esprit du technicien en la matière, sans s'écarter du
25 cadre, ni de la portée, de la présente invention.

REVENDICATIONS

1°) Séquence d'acide nucléique, caractérisée en ce qu'elle est sélectionnée dans le groupe constitué par :

- les séquences issues d'un érythrovirus, qui, moléculairement, ne peut être reconnu comme un érythrovirus B19 car présentant une divergence génétique $\geq 10\%$ sur l'ensemble du génome par rapport aux séquences de l'érythrovirus B19 et présentant une divergence génétique inférieure ou égale à 6% par rapport à la SEQ ID NO:1,

- la séquence SEQ ID NO:1 et
- les séquences nucléotidiques capables de s'hybrider en conditions stringentes avec ladite séquence ID NO:1.

2°) Séquence nucléique selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle présente un profil de restriction différent de celui de l'érythrovirus B19, notamment par les sites de restrictions suivants : Acc I, Afl III, Alw I, AlwN I, **Apa I**, Ava I, Ava II, Avr II, **BamH I**, Ban I, Ban II, Bbe I, Bbs I, BceF I, Bcg I, Bcn I, **Bgl II**, Bsg I, BsiE I, Bsm I, BsmA I, Bsp120 I, BspH I, BspM I, BsrF I, Bst1107 I, BstE II, BstU I, Bsu36 I, Dpn I, Dra III, Dsa I, Eae I, Eag I, Ear I, Ecl136 I, EcoN I, Eco109 I, EcoR I, Ehe I, Fok I, Hae I, Hae III, Hga I, HgiA I, Hha I, Hinc II, **Hind III**, HinP I, Hpa I, Kas I, Mae II, Mbo I, Mcr I, Msc I, **Mun I**, Nar I, Nci I, Nco I, Nsi I, Nsp I, Nsp7524 I, NspB II, NspC I, PflM I, Pme I, Ppu10 I, PpuM I, Pst I, **Pvu II**, Sac I, Sau3A I, Sca I, SfaN I, Sfc I, Sma I, Spe I, Sph I, Ssp I, Stu I, Sty I, Swa I, Tth111 I, Xba I, Xma I.

3°) Fragments de la séquence ID NO:1, aptes à permettre la détection d'un érythrovirus V9, caractérisés en ce qu'ils comprennent une séquence nucléotidique sélectionnée dans le groupe constitué par :

a) les séquences SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:91 ou SEQ ID NO:93,
b) les séquences nucléotidiques capables de s'hybrider avec l'une des séquences SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:91 ou SEQ ID NO:93,

c) les séquences SEQ ID NO:2-80

d) les séquences SEQ ID NO:105-121 et

e) les séquences complémentaires des séquences précédentes, les fragments issus des séquences précédentes d'au moins 17 nucléotides ou leurs séquences complémentaires.

4°) Fragment selon la revendication 3, caractérisé en ce qu'il est sélectionné dans le groupe constitué par les séquences SEQ ID NO:45-80, 108 et NO:110, leurs séquences complémentaires, les séquences issues de ces séquences d'au moins 17 nucléotides et les séquences comprenant lesdites séquences et en ce qu'il est apte à servir de sonde dans l'identification spécifique d'un érythrovirus de type V9 ou d'un érythrovirus apparenté.

5°) Fragment selon la revendication 3, caractérisé en ce qu'il est sélectionné dans le groupe constitué par les séquences SEQ ID NO:2-80 et les séquences SEQ ID NO:105-121, leurs séquences complémentaires, les séquences issues de ces séquences d'au moins 17 nucléotides et les séquences comprenant lesdites séquences et en ce qu'il est apte à servir d'amorce pour l'amplification de séquences issues d'un érythrovirus.

6°) Paires d'amorces, caractérisées en ce qu'elles sont sélectionnées dans le groupe constitué par :

- la paire A : amorces SEQ ID NO:111 et SEQ ID NO:112 ;
- la paire B : amorces SEQ ID NO:105 et SEQ ID NO:106 ;
- la paire C : l'une des séquences SEQ ID NO:2-44, 105, 106, 107, 109, 111 ou 112 et l'une des séquences SEQ ID NO:45-80, 108 ou 110 ;
- la paire D : amorce SEQ ID NO:107 et amorce SEQ ID NO:109 ;
- la paire E : deux amorces sélectionnées parmi les séquences SEQ ID NO:2-44, 105, 106, 107, 109, 111 ou 112 ; et
- la paire F : deux amorces sélectionnées parmi les séquences SEQ ID NO:45-80, 108 ou 110.

7°) Erythrovirus variant, caractérisé en ce qu'il ne peut être reconnu moléculairement comme un génome d'érythrovirus B19, en ce qu'il présente une divergence génétique \leq ou égale à 6 % avec la séquence SEQ ID NO :1 et en ce que

son génome s'hybride spécifiquement en conditions stringentes avec l'une des séquences SEQ ID NO:45 à 80, 108 et 110.

8°) Plasmide, caractérisé en ce qu'il comprend le génome viral d'une souche d'érythrovirus variant, dénommée érythrovirus V9 ou un fragment de celui-ci, ne pouvant être reconnue moléculairement comme un érythrovirus B19 et présentant avec ce dernier une divergence génétique $\geq 10\%$ sur l'ensemble du génome par rapport aux séquences de l'érythrovirus B19 et une divergence génétique inférieure ou égale à 6% avec la séquence SEQ ID NO:1.

9°) Plasmide selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'il inclut la séquence SEQ ID NO:1.

10°) Réactif de diagnostic pour la détection différentielle des érythrovirus de type V9, caractérisé en ce qu'il est sélectionné parmi les séquences SEQ ID NO:45-80, 108 et 110, leurs séquences complémentaires, les séquences issues de ces séquences d'au moins 17 nucléotides et les séquences comprenant lesdites séquences, éventuellement marquées avec un marqueur approprié.

11°) Procédé de diagnostic rapide et différentiel des érythrovirus, par hybridation et/ou amplification génique, réalisé à partir d'un échantillon biologique, lequel procédé est caractérisé en ce qu'il comprend :

(1) une étape dans laquelle l'on met en contact un échantillon biologique à analyser avec au moins une sonde de séquence SEQ ID NO:45-80, 108 ou 110 et

(2) une étape dans laquelle on détecte par tout moyen approprié le ou les produits résultant de l'interaction séquence nucléotidique d'érythrovirus-sonde.

12°) Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce qu'il comprend, préalablement à l'étape (1) :

. une étape d'extraction de l'acide nucléique à détecter, appartenant au génome du virus, éventuellement présent dans l'échantillon biologique, et

. au moins un cycle d'amplification génique.

13°) Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que les cycles d'amplification sont réalisés à l'aide d'une paire d'amorces selon la revendication 6.

14°) Procédé de diagnostic rapide et différentiel des érythrovirus, caractérisé en ce qu'il comprend :

. une étape d'extraction de l'acide nucléique à détecter, appartenant au génome du virus, éventuellement présent dans l'échantillon biologique,

5 . au moins un cycle d'amplification génique à l'aide d'une paire d'amorces selon la revendication 6 et

. la détection du produit amplifié d'une part par hybridation avec la séquence SEQ ID NO:121 et d'autre part par action de l'enzyme de restriction Mun I.

15 15°) Utilisation des séquences selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 pour la mise en œuvre d'un procédé d'hybridation ou d'amplification génique de séquence nucléiques d'érythrovirus pour le diagnostic *in vitro* de l'infection potentielle d'un individu par un érythrovirus.

16°) Procédé de criblage et de typage d'un érythrovirus V9 ou apparenté, caractérisé en ce qu'il comprend la mise en contact d'une sonde sélectionnée
15 dans le groupe constitué par les séquences selon la revendication 4, éventuellement marquée avec l'acide nucléique du virus à typer, éventuellement marqué, et la détection de l'hybride acide nucléique-sonde obtenu.

17°) Produits de traduction, caractérisés en ce qu'ils sont codés par une séquence nucléotidique selon la revendication 1.

20 18°) Protéine, caractérisée en ce qu'elle est susceptible d'être exprimée à l'aide d'une séquence nucléotidique selon la revendication 1.

19°) Protéine ou peptide, caractérisé en ce qu'il est issu d'un érythrovirus variant de type V9, tel que défini à la revendication 1 et en ce qu'il est sélectionné parmi les séquences SEQ ID NO:82 (protéine NS1), SEQ ID NO:86
25 (protéine VP1), SEQ ID NO:88 (protéine VP1 unique), SEQ ID NO:92 (protéine VP2) et SEQ ID NO:95-104, à savoir des fragments de la protéine VP1 [peptide VP1a (SEQ ID NO:95) ; peptide VP1b (SEQ ID NO:96) ; peptide VP1c (SEQ ID NO:97) ; peptide VP1d (SEQ ID NO:98) ; peptide VP1e (SEQ ID NO:99) ; peptide VP1f (SEQ ID NO:100)], ou des fragments de la protéine VP2 [peptide VP2a (SEQ ID NO:101) ;
30 peptide VP2b (SEQ ID NO:102) ; peptide VP2c (SEQ ID NO:103) ; peptide VP2d (SEQ ID NO:104)] ainsi que les peptides dérivés comprenant 7 à 50 aminoacides.

20°) Compositions immunogènes comprenant un ou plusieurs produits de traduction des séquences nucléotidiques selon la revendication 17 et/ou l'un des peptides ou protéines selon la revendication 18 ou la revendication 19.

21°) Anticorps dirigés contre l'un ou plusieurs des peptides ou protéines selon l'une quelconque des revendications 17 à 20.

22°) Procédé de détection immunologique d'une infection à érythro-virus V9, caractérisé en ce qu'il comprend :

- pour la détection des anticorps anti-érythrovirus V9, la mise en contact d'un échantillon biologique avec un peptide selon l'une quelconque des revendications 17 à 19 (sérodiagnostic),

- pour la détection des protéines virales d'érythrovirus V9, la mise en contact d'un échantillon biologique avec un anticorps selon la revendication 21 ;

la lecture du résultat étant révélée par un moyen approprié, notamment EIA, ELISA, RIA, fluorescence.

23°) Trousse de diagnostic d'érythrovirus, caractérisée en ce qu'elle inclut au moins un réactif selon la revendication 11 et/ou une paire d'amorces selon la revendication 6 et/ou un peptide selon l'une quelconque des revendications 17 à 19 et/ou un anticorps selon la revendication 21.

1/8

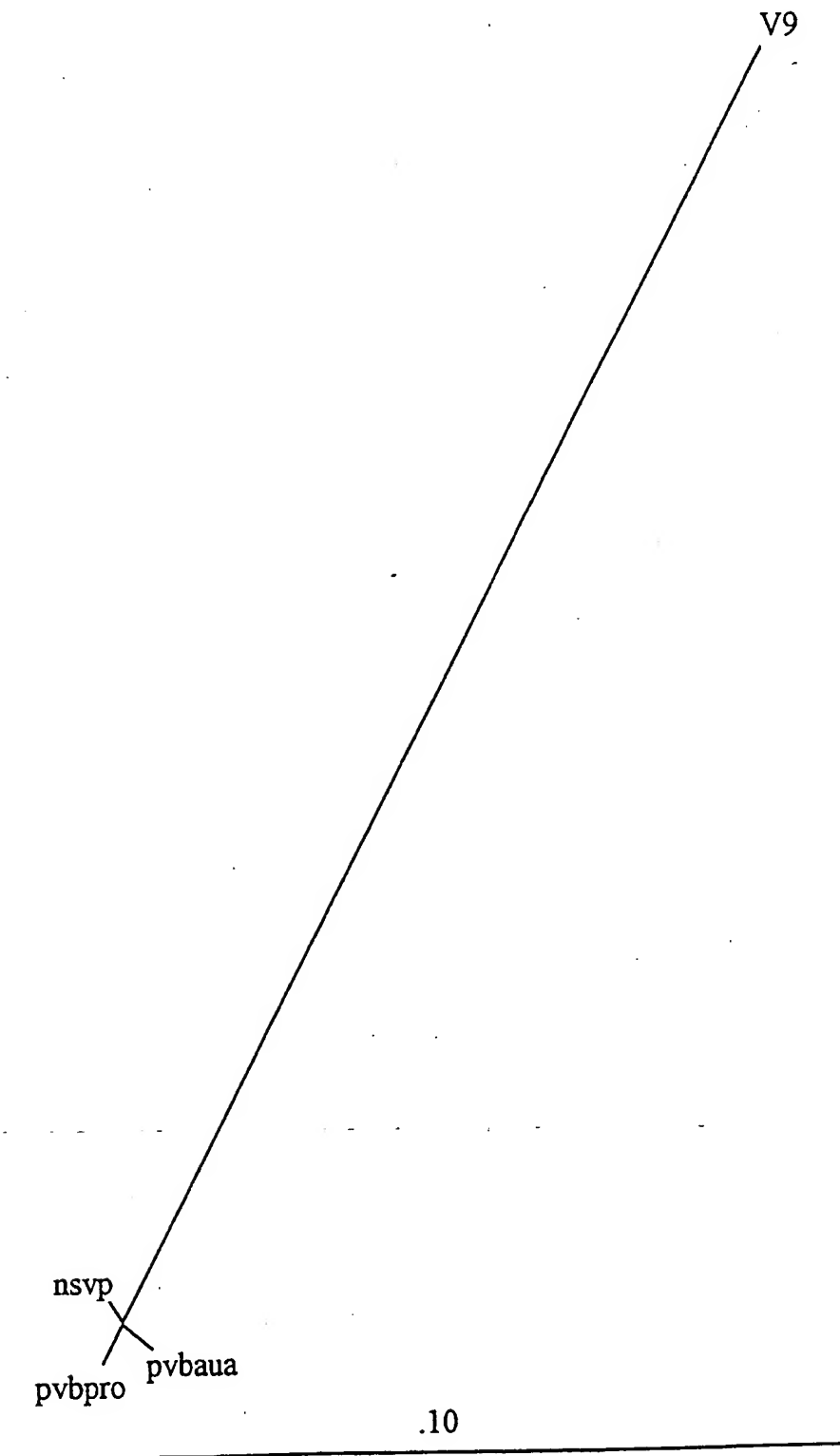


FIGURE 1

2/8

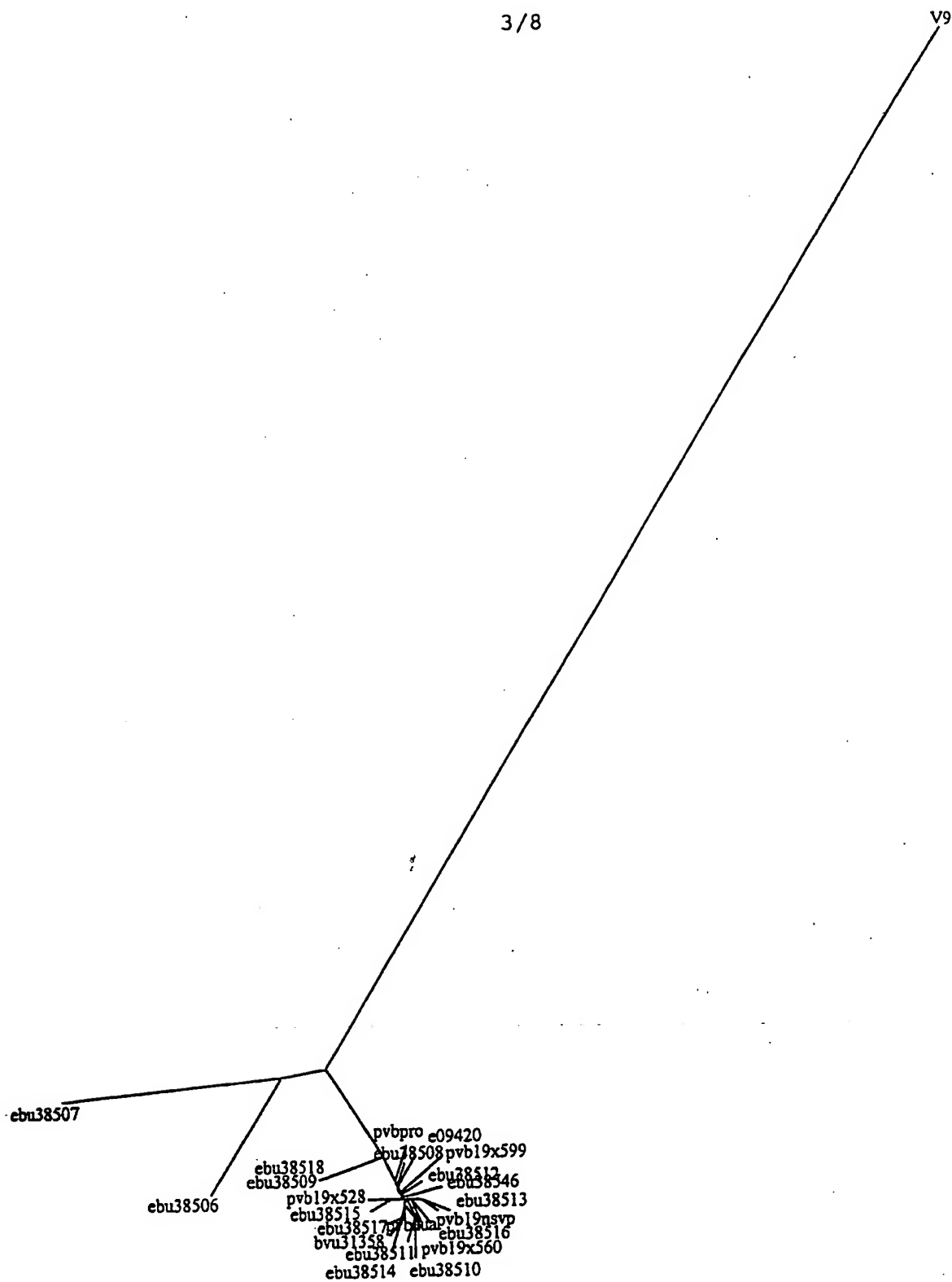
V9

pvb19x528
pvb19x599
e09420
pvbpro
pvb19x560
pvbaau
pvb19nsvp

0.10

FIGURE 2

3/8



0.10

FIGURE 3

4/8

	nsvp	aua	pro	v9
nsvp	0.00	0.70	0.80	14.77
pvbaua		0.00	0.90	15.03
pvbpro			0.00	15.03
v9				0.00

FIGURE 4

	420	599	nsvp	560	aua	528	pro	V9
e09420	0.00	0.65	0.75	0.70	0.80	0.75	0.85	14.87
pvb19x599		0.00	0.70	0.65	0.75	0.70	0.80	14.93
pvb19nsvp			0.00	0.35	0.45	0.70	0.70	14.99
pvb19x560				0.00	0.40	0.65	0.65	14.98
pvbaua					0.00	0.75	0.75	15.06
pvb19x528						0.00	0.80	15.17
pvbpro							0.00	15.11
V9								0.00

FIGURE 5

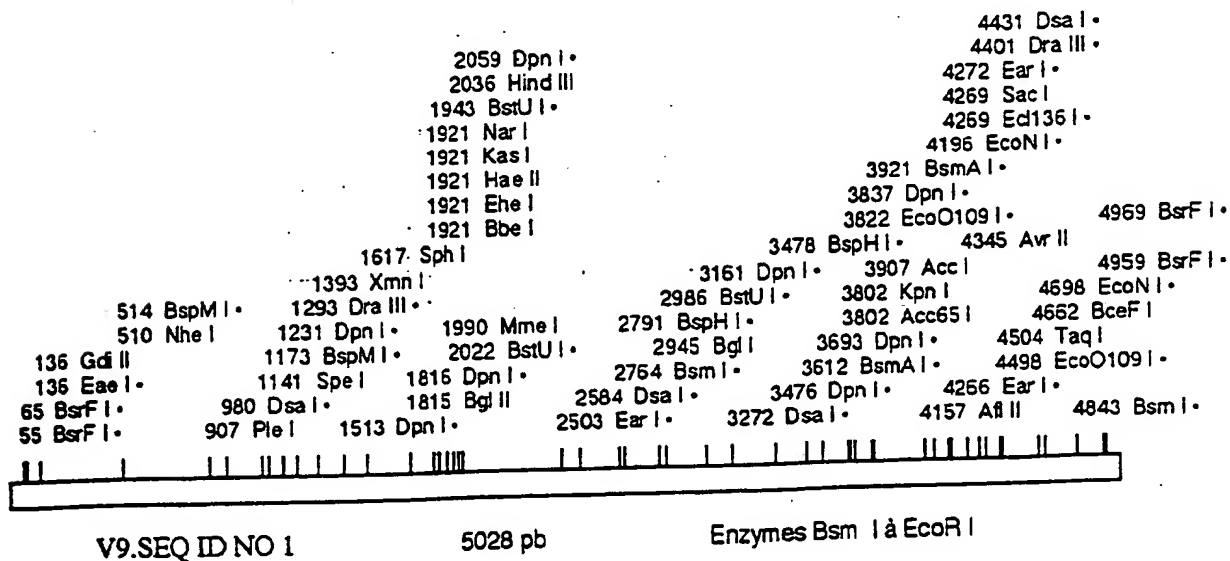
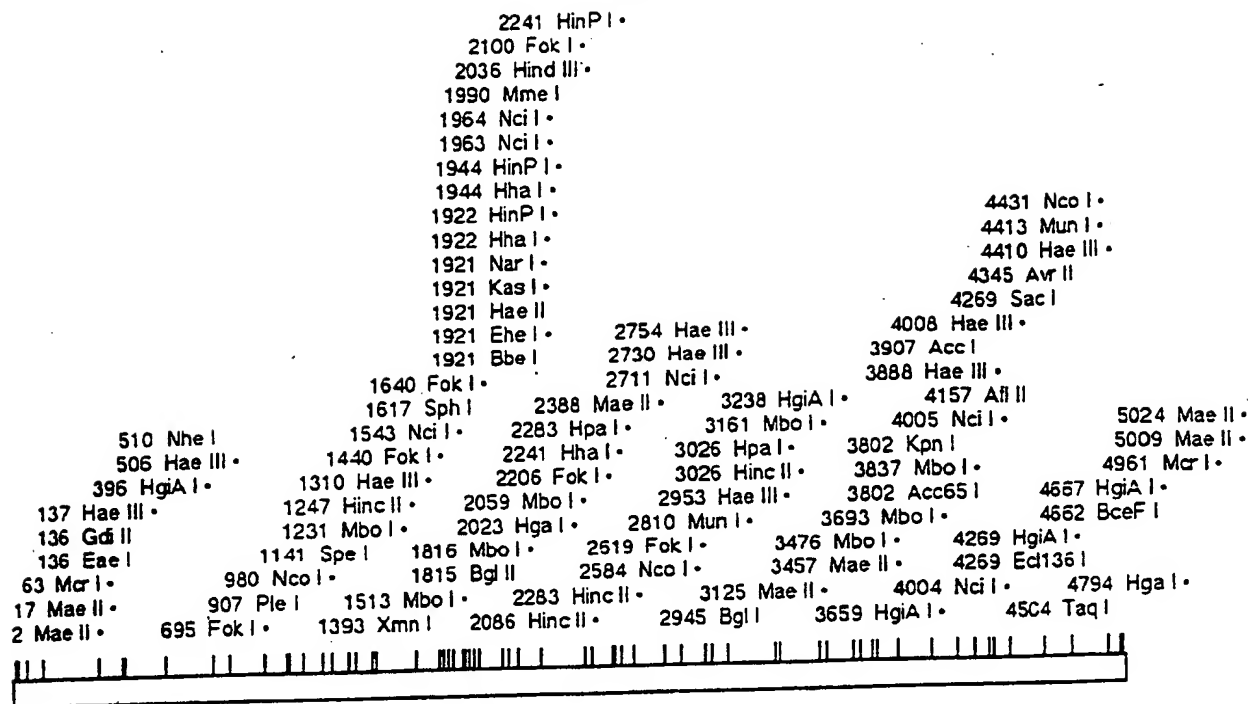


FIGURE 7.1

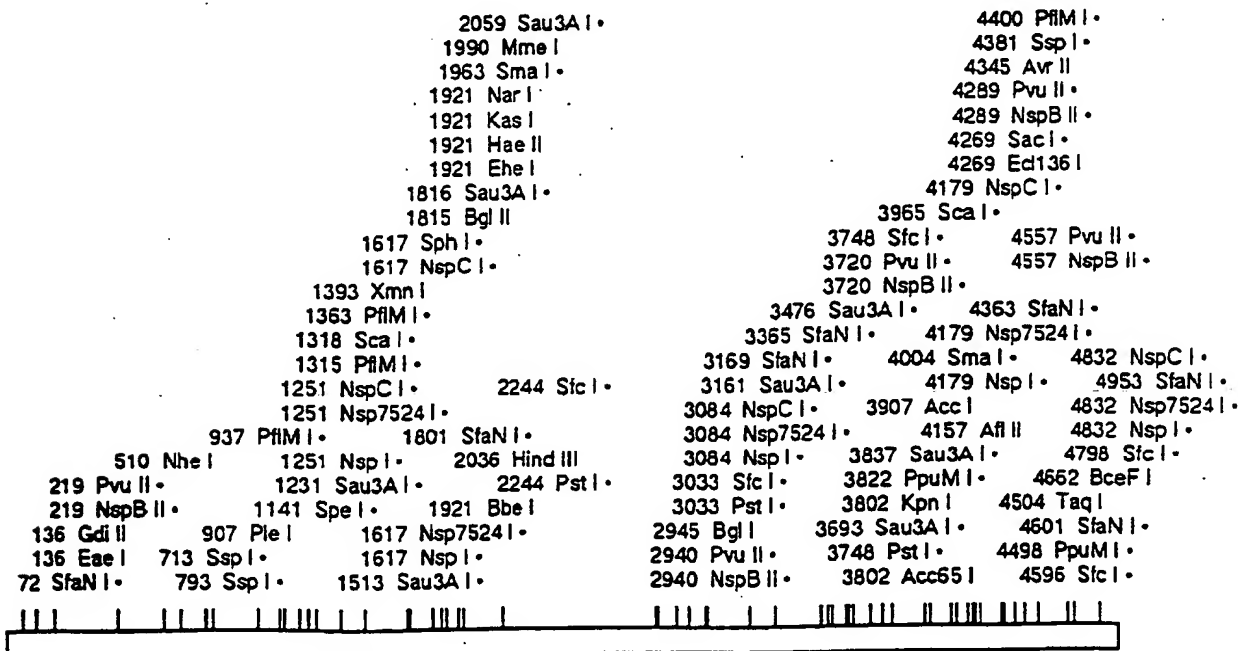
7/8



V9.SEQ ID NO 1

5028 pb

Enzymes Ehe I à Nco I



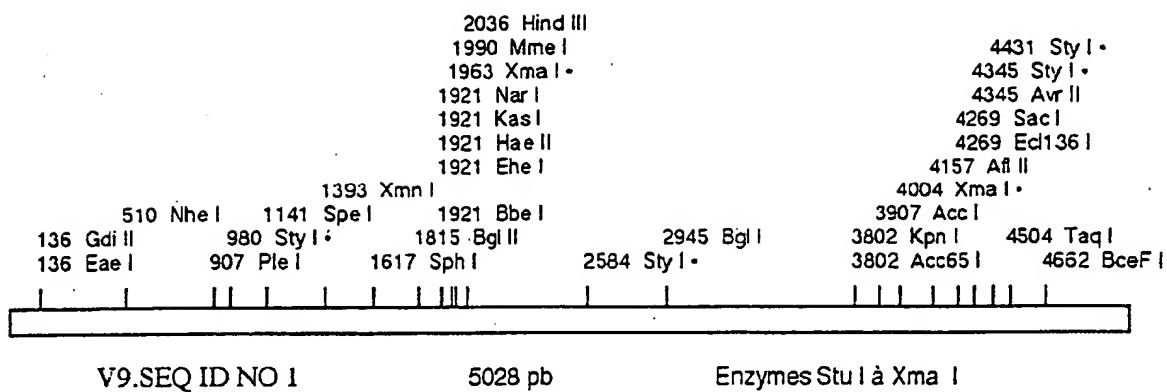
V9.SEQ ID NO 1

5028 pb

Enzymes Nci I à Ssp I

FIGURE 7.2

8/8

FIGURE 7.3

LISTAGE DES SEQUENCES

<110> NGUYEN, Quang Tri
 GARBARG-CHENON, Antoine
 AUGUSTE, Véronique
 ASSISTANCE PUBLIQUE-HOPITAUX DE PARIS

<120> ERYTHROVIRUS HUMAIN, FRAGMENTS DUDIT VIRUS AINSI QUE LEURS APPLICATIONS

<130> BLOcp1020/3P

<140>

<141>

<150> FR9715197

<151> 1997-12-03

<160> 121

<170> PatentIn Vers. 2.0

<210> 1

<211> 5028

<212> ADN

<213> erythrovirus

<400> 1

GACGTCACAG GAAATGACGT AACTGTCCGC CATCTGTAC CGGAAGTCCC GCCTACCGGC	60
GGCGACCGGC GGCATCTGAT TTGGTGTCTT CTTTTTGAAA TTTTGGCGGG CTTTTTCCCG	120
CCTTATGCAA ATAAGCGGCC ATGTTTAATG TTATATTTTA ATTTAATTGG ACAAACGCCT	180
AACGGTTACT AGGGGCGGAG TTACGGGCGG TATATAAGCA GCTGCGTTCC CTGACACTTT	240
CTTTTCTGGT TGCTTTTGAC TGGAATCAC TTGCTGTCTT TTGCCTGCTA AGTAACAGGT	300
ATTTATACTA ACTTTTAATT TACTAACATG GAGCTATTTT GGGGTGTCTT GCACATTTCC	360
TCTAACATTC TGGACTGTGC TAATGATAAC TGGTGGTGCT CTATGCTAGA CTTAGATACT	420
TCTGACTGGG AACCCTAAC CCATTCTAAC AGATTAATGG CAATATATTT AAGCAGTGT	480
GCTTCTAAAC TTGATTTTAC TGGGGGGCCG CTAGCAGGTT GCTTATACTT TTTTCAGGTG	540
GAATGTAACA AATTGAGGA AGGCTATCAT ATCCATGTAG TTATTGGTGG TCCAGGACTA	600
AATGCTAGAA ACTTAACTGT GTGCGTAGAA GGTTTATTTA ATAATGTTCT TTACCATCTT	660
GTAAGTAAA GTGTTAACT TAAATTTTTC CCAGGGATGA CTACCAAAGG AAAATATTTT	720
AGAGATGGAG AGCAGTTTAT AGAAAATTAC TTAATGAAAA AAATTCCTTT AAATGTTGTG	780
TGGTGTGTAA CAAATATTGA CGGGTATATA GACACCTGTA TTTCCGCCTC TTTTCGGCGA	840
GGAGCTTGTC ATGCTAAAAG ACCCCGCATT ACTGCAAATA CAGACAGTGC TACTAATGAA	900
ACTGGGGAGT CTAGCTGTGG AGGGGGAGAT GTTGTGCCAT TCGCTGGAAA GGAACAAAA	960
GCGGGGTAA AGTTTCAAAC CATGGTAAAT TGGCTATGTG AAAACAGAGT ATTTACTGAA	1020
GATAAATGGA AATTAGTGA TTTTAACCAA TATACTTTAT TAAGTAGCAG TCACAGTGGC	1080
AGCTTTCAAA TTCAAAGTGC CTTAAAGTTA GCTATTTATA AAGCTACTAA CTTAGTACCC	1140
ACTAGTACAT TCTTGTACA TTCAGACTTT GAGCAGGTTA CTTGCATTAA AGAAAATAAA	1200

AGTGTCTCT CCAGCAGCTA GTAGCTGCCA CAATGCTAGT GGGAAAGAGG CAAAAGTGTG 3240
CACTATTAGT CCCATTATGG GGTACTCTAC TCCGTGGAGA TACTTAGATT TTAATGCTTT 3300
AAATTTGTTT TTCTCACCAT TAGAGTTTCA GCACTTAATT GAAAATTATG GTAGTATAGC 3360
TCCAGATGCT TTAAGTGTAA CTATTTTCAGA AATTGCTGTA AAAGATGTCA CAGACAAAAC 3420
AGGAGGAGGT GTGCAAGTTA CTGACAGCAC CACAGGACGT TTGTGTATGT TAGTGGATCA 3480
TGAGTATAAA TACCCATATG TGCTAGGTCA GGGACAAGAC AACTAGCTC CAGAACTGCC 3540
CATTGGGTT TACTTTCCCC CCCAGTATGC TTAAGTAACTA GTAGGTGAAG TAAACACACA 3600
AGGAATTTCA GGAGACAGCA AAAAATTGGC TAGTGAAGAA TCAGCTTTTT ATGTGTTAGA 3660
GCACAGTTCA TTTGAACTTT TGGGTACAGG GGGATCTGCC ACTATGTCCT ACAAATTTCC 3720
AGCTGTGCCC CCAGAAAACC TAGAAGGCTG CAGCCAACAT TTTTATGAAA TGTACAACCC 3780
TTTGTACGGT TCTCGTTTAG GGGTACCTGA CACATTAGGA GGGGACCCTA AATTTAGATC 3840
ATTGACACAC GAAGACCACG CAATTCAGCC ACAAACCTTT ATGCCTGGGC CACTAATAAA 3900
TTCAGTGTCT ACCAAAGAAG GAGACAATTC TAATACAGGT GCTGGAAAAG CCCTTACGGG 3960
GCTTAGTACT GGCACCTAGC AAAACACCAG AATTTCCCTA CGCCCCGGGC CAGTATCTCA 4020
GCCATACCAT CACTGGGACA CTGATAAATA TGTTACAGGA ATAAATGCCA TTCACATGG 4080
ACAAACCACT TATGGAAATG CTGAGGACAA AGAGTATCAG CAAGGGGTAG GAAGATTTCC 4140
AAATGAAAA GAACAGCTTA AGCAGTTACA AGGTCTTAAC ATGCACACAT ACTTCCCTAA 4200
TAAAGGAACC CAACAATACA CAGACCAAAT TGAACGCCCT CTTATGGTGG GCTCTGTTTG 4260
GAACAGAAGA GCTCTTCACT ATGAAAGTCA GCTGTGGAGT AAAATCCCTA ACTTAGATGA 4320
CAGTTTTAAA ACTCAATTTG CAGCCCTAGG CGGGTGGGGT TTGCATCAAC CCCCCCTCA 4380
AATATTTTTA AAAATACTAC CACAAAGTGG GCCAATTGGA GGTATTAAAT CCATGGGAAT 4440
TACTACTTTA GTTCAATATG CTGTGGGAAT AATGACAGTT ACCATGACCT TTAAATTGGG 4500
ACCTCGAAAG GCTACTGGAA GGTGGAATCC CCAGCCTGGC GTTTATCCTC CTCATGCAGC 4560
TGGTCATTTA CCATATGTAC TGTATGACCC CACAGCTACA GATGCAAAGC AACACCACAG 4620
ACACGGATAT GAAAAGCCTG AAGAATTGTG GACTGCCAAA AGCCGTGTGC ACCCATGTGA 4680
AACATTCCCC ACCGTGTCCT CAGCCAGGAA CCGTCACCCA CCGCCACCT GTGCCGCCA 4740
GATTATATGT GCCCCCTCCA ATACCCCGTA GGCAACCATC TATAAAAGAT ACAGACGCTG 4800
TAGAATATAA ATTATTAAGT AGATATGAAC AACATGTAAT TAGAATGCTA AGATTATGTA 4860
ATATGTACAC AAGTTTGGAA AAATAAAAGC CTTAAATAAA TAATTCATAG TGTATGGTTC 4920
TTTAAAATT TCAAAAAGAA GACACCAAAT CAGATGCCGC CGGTCGCCGC CGGTAGGCGG 4980
GACTTCCGGT ACAAGATGGC GGACAGTTAC GTCATTTCTT GTGACGTC 5028

ATAGTAAAT TATTATTGTG TCAAACTAT GATCCTCTTT TAGTGGGTCA ACATGTGTTA	1260
AGGTGGATTG ACAAAAAATG TGGTAAAAA AACACCCTGT GGTTTTACGG GCCACCAAGT	1320
ACTGGAAAA CAAATTTGGC AATGGCTATT GCTAAACTG TACCAGTGTA TGAATGGTG	1380
AATTGGAATA ATGAAACTT TCCATTTAAT GATGTAGCGG GGAAAAGTTT GGTGGTCTGG	1440
GATGAAGGCA TTATTAAGTC CACTATTGTG GAAGCTGCAA AAGCCATTTT AGGTGGTCAG	1500
CCAACCAGGG TAGATCAGAA AATGCGTGGC AGTGTGGCAG TGCCCGGTGT GCCTGTGGTT	1560
ATAACCAGCA ATGGTGACAT TACATTTGTT GTGAGTGGTA ATACCACTAC AACTGTGCAT	1620
GCTAAAGCCT TAAAGGAACG GATGGTAAAG CTAACTTTA CCATAAGATG TAGCCCTGAC	1680
ATGGGTTTAC TTACAGAGGC TGATGTACAA CAATGGCTAA CTTGGTGTAA TGCACAAAGC	1740
TGGAGCCACT ATGAAACTG GGCAATAAAC TACACATTTG ATTTCCCTGG AATAAATGCA	1800
GATGCCCTCC ACCCAGATCT CCAAACCACC CCCATTGTCC CAGACACCAG TATCAGCAGC	1860
AGTGGTGGTG AAAGCTCTGA AGAACTCAGT GAAAGCAGCT TTTTCAACCT CATCACTCCA	1920
GGCGCTGGA ACAGTGAAAC CCCGCGCTCT AGTACGCCCG TCCCCGGGAC CAGTTCAGGA	1980
GAATCATTTG TCGGAAGCCC AGTTTCCTCC GAAGTGGTAG CCGCGTCGTG GGAGGAAGCT	2040
TTTTACACGC CGCTTGCCGA TCAGTTTCGT GAACTGTTAG TAGGGGTGA CTTTGTATGG	2100
GATGGTGTGA GGGGATTGCC TGTTTGCTGT GTGGAACATA TAAACAACAG TGGGGGAGGG	2160
TTGGGGCTTT GCCCTCATTG TATTAATGTG GGAGCTTGGT ATAATGGATG GAAATTTAGA	2220
GAGTTTACTC CAGACTTAGT GCGCTGCAGT TGTCATGTAG GAGCCTCTAA CCCATTTTCT	2280
GTGTTAACTT GTAAAAATG TGCTTACCTG TCTGGATTAC AAAGTTTGT AGATTATGAG	2340
TAAAACCACT AACAAATGGT GGGAAAGCAG TGACAAATTT GCCCAGGACG TGTATAAGCA	2400
GTTTGTGCAA TTTTATGAAA AAGCTACTGG AACAGACTTA GAGCTTATTC AAATTTTAAA	2460
AGACCATTAC AACATTTCTT TAGATAATCC TTTAGAAAAC CCCTCTTCTT TATTTGACTT	2520
AGTTGCTCGC ATTAAAAGTA ATCTTAAAAA CTCTCCAGAC CTATATAGTC ATCATTTTCA	2580
GAGCCATGGA CAGTTATCTG ACCACCCCCA TGCCTTATCA TCCAGTAACA GTAGTGCAGA	2640
ACCTAGAGGA GAAAATGCAG TATTATCTAG TGAAGACTTA CACAAGCCTG GGCAAGTTAG	2700
CATACAATTA CCCGGTACTA ACTATGTTGG GCCTGGCAAT GAGCTACAAG CTGGGCCTCC	2760
GCAGAATGCT GTGGACAGTG CTGCAAGGAT TCATGACTTT AGGTATAGCC AATTGGCTAA	2820
GTTGGGAATA AATCCTTATA CACATTGGAC GGTAGCAGAT GAAGAATTGT TAAAAAATAT	2880
AAAAATGAA ACAGGGTTTC AAGCACAAGC AGTAAAAGAT TACTTTACTT TAAAAGGTGC	2940
AGCTGCCCCT GTGGCCCAT TCAAGGAAG TTTACCGGAA GTGCCCGCGT ACAACGCCTC	3000
AGAAAAATAC CCCAGCATGA CTTCAGTTAA CTCTGCAGAA GCCAGCACTG GTGCAGGCGG	3060
GGGAGGTAGC AACCTACAA AAAGCATGTG GAGTGAAGGG GCTACATTTA CTGCTAATTC	3120
TGTAACGTGT ACATTCTCTA GGCAATTTTT AATCCATAT GATCCAGAGC ATCATTATAA	3180

<210> 2
<211> 23
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 2
ACTTCTGACT GGGAACCACT AAC

-23

<210> 3
<211> 29
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 3
TTTAGAGATG GAGAGCAGTT TATAGAAAA

29

<210> 4
<211> 35
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 4
TGGAATAATG AAAACTTTCC ATTTAATGAT GTAGC

35

<210> 5
<211> 20
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 5
TTGGTGGTCT GGGATGAAGG

20

<210> 6
<211> 20
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 6
ACAGAGGCTG ATGTACAACA

20

<210> 7
<211> 21
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 7
TGGTGTAATG CACAAAGCTG G

21

<210> 8
<211> 31
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 8
CCACTATGAA AACTGGGCAA TAACTACAC A

31

<210> 9
<211> 17
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 9
TTTGATTTCCT CTGGAAT

17

<210> 10
<211> 23

<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 10
AATGCAGATG CCCTCCACCC AGA 23

<210> 11
<211> 64
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 11
CAGACACCAG TATCAGCAGC AGTGGTGGTG AAAGCTCTGA AGAACTCAGT GAAAGCAGCT 60

TTTT 64

<210> 12
<211> 25
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 12
TGAAACCCCG CGCTCTAGTA CGCCC 25

<210> 13
<211> 55
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 13
TCCCCGGGAC CAGTTCAGGA GAATCATTTG TCGGAAGCCC AGTTTCCTCC GAAGT 55

<210> 14
<211> 20
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 14
CAGTTTCGTG AACTGTTAGT 20

<210> 15
<211> 24
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 15
GCTTGGTATA ATGGATGGAA ATTT 24

<210> 16
<211> 26
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 16
AAAAAATGTG CTTACCTGTC TGGATT 26

<210> 17
<211> 18
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 17
CTTAAAACT CTCCAGAC 18

<210> 18
<211> 19

<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 18
TATATAGTCA TCATTTTCA 19

<210> 19
<211> 43
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 19
CATGGACAGT TATCTGACCA CCCCCATGCC TTATCATCCA GTA 43

<210> 20
<211> 19
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 20
TGCAGAACCT AGAGGAGAA 19

<210> 21
<211> 47
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 21
ATGCAGTATT ATCTAGTGAA GACTTACACA AGCCTGGGCA AGTTAGC 47

<210> 22
<211> 49
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 22
TACCCGGTAC TAACTATGTT GGGCCTGGCA ATGAGCTACA AGCTGGGCC 49

<210> 23
<211> 39
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 23
GACAGTGCTG CAAGGATTCA TGACTTTAGG TATAGCCAA 39

<210> 24
<211> 22
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 24
TGGCTAAGTT GGGAATAAAT CC 22

<210> 25
<211> 23
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 25
TTAAAAAATA TAAAAAATGA AAC 23

<210> 26
<211> 53
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 26
TACTTTACTT TAAAAGGTGC AGCTGCCCCT GTGGCCCATT TTCAAGGAAG TTT 53

<210> 27
<211> 23
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 27
TACAACGCCT CAGAAAAATA CCC 23

<210> 28
<211> 26
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 28
TCTGCAGAAG CCAGCACTGG TGCAGG 26

<210> 29
<211> 23
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 29
TTAGATTTTA ATGCTTTAAA TTT 23

<210> 30
<211> 32
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 30
TTAGAGTTTC AGCACTTAAT TGAAAATTAT GG 32

<210> 31
<211> 20
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 31
ACAGGAATAA ATGCCATTTC 20

<210> 32
<211> 24
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 32
GACAAAGAGT ATCAGCAAGG GGTA 24

<210> 33
<211> 26
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 33
AGATTTCCAA ATGAAAAAGA ACAGCT 26

<210> 34
<211> 18
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 34
TCAGCTGTGG AGTAAAAT 18

<210> 35
<211> 23
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 35
TTAGATGACA GTTTTAAAAC TCA 23

<210> 36
<211> 21
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 36
CCTCAAATAT TTTTAAAAAT A 21

<210> 37
<211> 34
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 37
TACCACAAAG TGGGCCAATT GGAGGTATTA AATC 34

<210> 38
<211> 23
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 38
ATGGGAATTA CTACTTTAGT TCA 23

<210> 39
<211> 62
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 39
GGTCATTTAC CATATGTACT GTATGACCCC ACAGCTACAG ATGCAAAGCA ACACCACAGA 60
CA 62

<210> 40
<211> 29
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 40
GGATATGAAA AGCCTGAAGA ATTGTGGAC 29

<210> 41
<211> 30
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 41
GCCAAAAGCC GTGTGCACCC ATTGTAAACA 30

<210> 42
<211> 21
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 42
TCCCCACCGT GTCCTCAGCC A 21

<210> 43
<211> 109
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 43
CTTTAAAAAT TTCAAAAAGA AGACACCAAA TCAGATGCCG CCGGTCGCCG CCGGTAGGCG 60
GGACTTCCGG TACAAGATGG CGGACAGTTA CGTCATTTC TGTGACGTC 109

<210> 44
<211> 103
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 44
GACGTCACAG GAAATGACGT AACTGTCCGC CATCTTGAC CGGAAGTCCC GCCTACCGGC 60
GGCGACCGGC GGCATCTGAT TTGGTGTCTT CTTTTGAAA TTT 103

<210> 45
<211> 210
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 45
CTTTTTGAAA TTTTGGCGGG CTTTTCCCG CCTTATGCAA ATAAGCGGCC ATGTTTAATG 60
TTATATTTTA ATTTAATTGG ACAAACGCCT AACGGTACT AGGGGCGGAG TTACGGGCGG 120
TATATAAGCA GCTGCGTTCC CTGACACTTT CTTTTCTGGT TGCTTTTGAC TGGAACAC 180
TTGCTGTTCT TTGCCTGCTA AGTAACAGGT 210

<210> 46
<211> 30
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 46
ATTTATACTA ACTTTTAATT TACTAACATG 30

<210> 47
<211> 100
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 47
GAGCTATTTT GGGGTGTCTT GCACATTTC TCTAACATTC TGGACTGTGC TAATGATAAC 60
TGGTGGTGCT CTATGCTAGA CTTAGATACT TCTGACTGGG 100

<210> 48
<211> 117
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 48
AACCACCTAAC CCATTCTAAC AGATTAATGG CAATATATTT AAGCAGTGTT GCTTCTAAC 60
TTGATTTTAC TGGGGGGCCG CTAGCAGGTT GCTTATACTT TTTTCAGGTG GAATGTA 117

<210> 49

<211> 183
 <212> ADN
 <213> erythrovirus

<400> 49
 ACAAATTTGA GGAAGGCTAT CATATCCATG TAGTTATTGG TGGTCCAGGA CTAAATGCTA 60
 GAAACTTAAC TGTGTGCGTA GAAGGTTTAT TTAATAATGT TCTTTACCAT CTTGTAACGT 120
 AAAGTGTTAA ACTTAAATTT TTGCCAGGGA TGA CTACCAA AGGAAAATAT TTTAGAGATG 180
 GAG 183

<210> 50
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> erythrovirus

<400> 50
 AGCAGTTTAT AGAAAATTAC TTAATGAAAA AAATTCCTTT AAATGTTGTG TGGTGTGTAA 60
 CAAATATTGA CGGGTATATA GACACCTGTA TTTCCGCCTC TTTTCGGCGA GGAGCTTGTC 120
 ATGCTAAAAG ACCCCGCATT ACTGCAAATA CAGACAGTGC TACTAATGAA ACTGGGGAGT 180
 CTAGCTGTGG AGGGGGAGAT GTTGTGCCAT TCGCTGGAAA GGAACAAAA GCGGGGTAA 240
 AGTTTCAAAC CATGGTAAAT TGGCTATGTG AAAACAGAGT ATTTACTGAA GATAAATGGA 300
 AATTAGTGGA TTTTAACCAA TATACTTTAT TAAGTAGCAG TCACAGTGGC AGCTTTCAA 360
 TTCAAAGTGC CTTAAAGTTA GCTATTTATA AAGCTACTAA CTTAGTACCC ACTAGTACAT 420
 TCTTGTTACA TTCAGACTTT GAGCAGGTTA CTTGCATTAA AGAAAATAAA ATAGTAAAT 480
 TATTATTGTG TCAAACTAT GATCCTCTTT TAGTGGGTCA ACATGTGTTA AGGTGGATTG 540
 ACAAAAAATG TGGTAAAAAA AACACCCTGT GGTTTTACGG GCCACCAAGT ACTGGAAAA 600
 CAAATTTGGC AATGGCTATT GCTAAACTG TACCAGTGTA TGGAATGGTG AATTGGAATA 660
 ATGAAAACCTT 670

<210> 51
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> erythrovirus

<400> 51
 TCCATTTAAT GATGTAGCGG GGAAAAGTTT GGTGGT 36

<210> 52
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> erythrovirus

<400> 52
 CTGGGATGAA GGCATTATTA AGTCCACTAT TGTGGAAGCT GCAAAA 46

<210> 53
 <211> 84
 <212> ADN
 <213> erythrovirus

<400> 53
 GCCATTTTAG GTGGTCAGCC AACCAGGGTA GATCAGAAAA TGCGTGGCAG TGTGGCAGTG 60

CCCGGTGTGC CTGTGGTTAT AACC 84

<210> 54
<211> 60
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 54
AGCAATGGTG ACATTACATT TGTGTGAGT GGTAATACCA CTACAACTGT GCATGCTAAA 60

<210> 55
<211> 76
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 55
GCCTTAAAGG AACGGATGGT AAAGCTAAAC TTTACCATAA GATGTAGCCC TGACATGGGT 60

TTACTTACAG AGGCTG 76

<210> 56
<211> 30
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 56
ATGTACAACA ATGGCTAACT TGGTGTAATG 30

<210> 57
<211> 28
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 57
CACAAAGCTG GAGCCACTAT GAAAACTG 28

<210> 58
<211> 98
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 58
TTCAGGAGAA TCATTTGTGC GAAGCCAGT TTCCTCCGAA GTGGTAGCCG CGTCGTGGGA 60

GGAAGCTTTT TACACGCCGC TTGCCGATCA GTTTCGTG 98

<210> 59
<211> 134
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 59
AACTGTTAGT AGGGGTTGAC TTTGTATGGG ATGGTGTGAG GGGATTGCCT GTTGCTGTG 60

TGGAACATAT AAACAACAGT GGGGGAGGGT TGGGGCTTTG CCCTCATTGT ATTAATGTGG 120

GAGCTTGGA TAAT 134

<210> 60
<211> 100
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 60
 GGATGGAAAT TTAGAGAGTT TACTCCAGAC TTAGTGCCT GCAGTTGTCA TGTAGGAGCC 60
 TCTAACCCAT TTTCTGTGTT AACTTGTA AAATGTGCTT 100
 <210> 61
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> erythrovirus
 <400> 61
 ACCTGTCTGG ATTACAAAGT TTTGTAGATT 30
 <210> 62
 <211> 102
 <212> ADN
 <213> erythrovirus
 <400> 62
 ATGAGTAAAA CCACTAACAA ATGGTGGGAA AGCAGTGACA AATTGCCCCA GGACGTGTAT 60
 AAGCAGTTTG TGCAATTTTA TGAAAAAGCT ACTGGAACAG AC 102
 <210> 63
 <211> 114
 <212> ADN
 <213> erythrovirus
 <400> 63
 TTAGAGCTTA TTCAAATTTT AAAAGACCAT TACAACATTT CTTTAGATAA TCCTTTAGAA 60
 AACCCCTCTT CTTTATTTGA CTTAGTTGCT CGCATTAATAA GTAATCTTAA AAAC 114
 <210> 64
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> erythrovirus
 <400> 64
 TCTCCAGACC TATATAGTCA TC 22
 <210> 65
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> erythrovirus
 <400> 65
 ATTTTCAGAG CCATGGACAG TTA 23
 <210> 66
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> erythrovirus
 <400> 66
 ATCATCCAGT AACAGTAGTG CAGAACCTAG 30
 <210> 67
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> erythrovirus
 <400> 67
 CAAGCTGGGC CTCCGCAGAA TGCTGTGGAC AGTGCTGCA 39

<210> 68
<211> 56
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 68
GGAATAAATC CTTATACACA TTGGACGGTA GCAGATGAAG AATTGTTAAA AAATAT 56

<210> 69
<211> 51
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 69
AAAAAATGAA ACAGGGTTTC AAGCACAAGC AGTAAAAGAT TACTTTACTT T 51

<210> 70
<211> 37
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 70
AAGGAAGTTT ACCGGAAGTG CCCGCGTACA ACGCCTC 37

<210> 71
<211> 42
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 71
AGAAAAATAC CCCAGCATGA CTTCAGTTAA CTCTGCAGAA GC 42

<210> 72
<211> 255
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 72
CAGCACTGGT GCAGGCGGGG GAGGTAGCAA CCCTACAAAA AGCATGTGGA GTGAAGGGGC 60
TACATTTACT GCTAATTCTG TAACGTGTAC ATTCTCTAGG CAATTTTAA TTCCATATGA 120
TCCAGAGCAT CATTATAAAG TGTTCTCTCC AGCAGCTAGT AGCTGCCACA ATGCTAGTGG 180
GAAAGAGGCA AAAGTGTGCA CTATTAGTCC CATTATGGGG TACTCTACTC CGTGGAGATA 240
CTTAGATTTT AATGC 255

<210> 73
<211> 33
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 73
TTTAAATTG TTTTCTCAC CATTAGAGTT TCA 33

<210> 74
<211> 725
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 74
GAAATTATG GTAGTATAGC TCCAGATGCT TTAAGTGTA CTATTCAGA AATTGCTGTA 60
AAAGATGTCA CAGACAAAAC AGGAGGAGGT GTGCAAGTTA CTGACAGCAC CACAGGACGT 120

TTGTGTATGT TAGTGGATCA TGAGTATAAA TACCCATATG TGCTAGGTCA GGGACAAGAC	180
ACACTAGCTC CAGAACTGCC CATTTGGGTT TACTTTCCCC CCCAGTATGC TTACTTAACA	240
GTAGGTGAAG TAAACACACA AGGAATTTCA GGAGACAGCA AAAAATTGGC TAGTGAAGAA	300
TCAGCTTTTT ATGTGTTAGA GCACAGTTCA TTTGAACTTT TGGGTACAGG GGGATCTGCC	360
ACTATGTCCT ACAAATTTCC AGCTGTGCCC CCAGAAAACC TAGAAGGCTG CAGCCAACAT	420
TTTTATGAAA TGTACAACCC TTTGTACGGT TCTCGTTTAG GGGTACCTGA CACATTAGGA	480
GGGGACCCTA AATTTAGATC ATTGACACAC GAAGACCACG CAATTCAGCC ACAAACCTTT	540
ATGCCTGGGC CACTAATAAA TTCAGTGTCT ACCAAAGAAG GAGACAATTC TAATACAGGT	600
GCTGGAAAAG CCCTTACGGG GCTTAGTACT GGCCTAGCC AAAACACCAG AATTTCCCTA	660
CGCCCCGGGC CAGTATCTCA GCCATACCAT CACTGGGACA CTGATAAATA TGTTACAGGA	720
ATAAA	725
 <210> 75 <211> 49 <212> ADN <213> erythrovirus	
<400> 75 TGCCATTTCA CATGGACAAA CCACTTATGG AAATGCTGAG GACAAAGAG	49
 <210> 76 <211> 30 <212> ADN <213> erythrovirus	
<400> 76 TATCAGCAAG GGGTAGGAAG ATTTCCAAAT	30
 <210> 77 <211> 180 <212> ADN <213> erythrovirus	
<400> 77 GAAAAAGAAC AGCTTAAGCA GTTACAAGGT CTTAACATGC ACACATACTT CCCTAATAAA	60
GGAACCCAAC AATACACAGA CCAAATTGAA CGCCCTCTTA TGGTGGGCTC TGTTTGGAAC	120
AGAAGAGCTC TTCCTATGA AAGTCAGCTG TGGAGTAAAA TCCCTAACTT AGATGACAGT	180
 <210> 78 <211> 64 <212> ADN <213> erythrovirus	
<400> 78 TTTAAACTC AATTTGCAGC CCTAGCGGG TGGGGTTTGC ATCAACCACC CCCTCAAATA	60
TTT	64
 <210> 79 <211> 152 <212> ADN <213> erythrovirus	

<400> 79
 AGGTATTAAA TCCATGGGAA TTACTACTTT AGTTCAATAT GCTGTGGGAA TAATGACAGT 60
 TACCATGACC TTAAATTGG GACCTCGAAA GGCTACTGGA AGGTGGAATC CCCAGCCTGG 120
 CGTTTATCCT CCTCATGCAG CTGGTCATTT AC 152
 <210> 80
 <211> 260
 <212> ADN
 <213> erythrovirus
 <400> 80
 CCCATTGTAA ACATTCCCCA CCGTGTCTC AGCCAGGAAC CGTCACCCAC CGCCACCTG 60
 TGCCGCCCAG ATTATATGTG CCCCTCCAA TACCCCGTAG GCAACCATCT ATAAAAGATA 120
 CAGACGCTGT AGAATATAAA TTATTAATA GATATGAACA ACATGTAATT AGAATGCTAA 180
 GATTATGTAA TATGTACACA AGTTTGAAA AATAAAGCC TTAAATAAAT AATTCATAGT 240
 GTATGGTTCT TAAAAATTT 260
 <210> 81
 <211> 2013
 <212> ADN
 <213> erythrovirus
 <400> 81
 ATG GAG CTA TTT CGG GGT GTC TTG CAC ATT TCC TCT AAC ATT CTG GAC 48
 Met Glu Leu Phe Arg Gly Val Leu His Ile Ser Ser Asn Ile Leu Asp
 1 5 10 15
 TGT GCT AAT GAT AAC TGG TGG TGC TCT ATG CTA GAC TTA GAT ACT TCT 96
 Cys Ala Asn Asp Asn Trp Trp Cys Ser Met Leu Asp Leu Asp Thr Ser
 20 25 30
 GAC TGG GAA CCA CTA ACC CAT TCT AAC AGA TTA ATG GCA ATA TAT TTA 144
 Asp Trp Glu Pro Leu Thr His Ser Asn Arg Leu Met Ala Ile Tyr Leu
 35 40 45
 AGC AGT GTT GCT TCT AAA CTT GAT TTT ACT GGG GGG CCG CTA GCA GGT 192
 Ser Ser Val Ala Ser Lys Leu Asp Phe Thr Gly Gly Pro Leu Ala Gly
 50 55 60
 TGC TTA TAC TTT TTT CAG GTG GAA TGT AAC AAA TTT GAG GAA GGC TAT 240
 Cys Leu Tyr Phe Phe Gln Val Glu Cys Asn Lys Phe Glu Glu Gly Tyr
 65 70 75 80
 CAT ATC CAT GTA GTT ATT GGT GGT CCA GGA CTA AAT GCT AGA AAC TTA 288
 His Ile His Val Val Ile Gly Gly Pro Gly Leu Asn Ala Arg Asn Leu
 85 90 95
 ACT GTG TGC GTA GAA GGT TTA TTT AAT AAT GTT CTT TAC CAT CTT GTA 336
 Thr Val Cys Val Glu Gly Leu Phe Asn Asn Val Leu Tyr His Leu Val
 100 105 110
 ACT GAA AGT GTT AAA CTT AAA TTT TTG CCA GGG ATG ACT ACC AAA GGA 384
 Thr Glu Ser Val Lys Leu Lys Phe Leu Pro Gly Met Thr Thr Lys Gly
 115 120 125
 AAA TAT TTT AGA GAT GGA GAG CAG TTT ATA GAA AAT TAC TTA ATG AAA 432
 Lys Tyr Phe Arg Asp Gly Glu Gln Phe Ile Glu Asn Tyr Leu Met Lys
 130 135 140
 AAA ATT CCT TTA AAT GTT GTG TGG TGT GTA ACA AAT ATT GAC GGG TAT 480

Lys	Ile	Pro	Leu	Asn	Val	Val	Trp	Cys	Val	Thr	Asn	Ile	Asp	Gly	Tyr		
145					150					155					160		
ATA	GAC	ACC	TGT	ATT	TCC	GCC	TCT	TTT	CGG	CGA	GGA	GCT	TGT	CAT	GCT	528	
Ile	Asp	Thr	Cys	Ile	Ser	Ala	Ser	Phe	Arg	Arg	Gly	Ala	Cys	His	Ala		
				165					170					175			
AAA	AGA	CCC	CGC	ATT	ACT	GCA	AAT	ACA	GAC	AGT	GCT	ACT	AAT	GAA	ACT	576	
Lys	Arg	Pro	Arg	Ile	Thr	Ala	Asn	Thr	Asp	Ser	Ala	Thr	Asn	Glu	Thr		
			180					185					190				
GGG	GAG	TCT	AGC	TGT	GGA	GGG	GGA	GAT	GTT	GTG	CCA	TTC	GCT	GGA	AAG	624	
Gly	Glu	Ser	Ser	Cys	Gly	Gly	Gly	Asp	Val	Val	Pro	Phe	Ala	Gly	Lys		
			195				200					205					
GGA	ACA	AAA	GCG	GGG	TTA	AAG	TTT	CAA	ACC	ATG	GTA	AAT	TGG	CTA	TGT	672	
Gly	Thr	Lys	Ala	Gly	Leu	Lys	Phe	Gln	Thr	Met	Val	Asn	Trp	Leu	Cys		
	210				215					220							
GAA	AAC	AGA	GTA	TTT	ACT	GAA	GAT	AAA	TGG	AAA	TTA	GTG	GAT	TTT	AAC	720	
Glu	Asn	Arg	Val	Phe	Thr	Glu	Asp	Lys	Trp	Lys	Leu	Val	Asp	Phe	Asn		
225					230					235					240		
CAA	TAT	ACT	TTA	TTA	AGT	AGC	AGT	CAC	AGT	GGC	AGC	TTT	CAA	ATT	CAA	768	
Gln	Tyr	Thr	Leu	Leu	Ser	Ser	Ser	His	Ser	Gly	Ser	Phe	Gln	Ile	Gln		
				245					250					255			
AGT	GCC	TTA	AAG	TTA	GCT	ATT	TAT	AAA	GCT	ACT	AAC	TTA	GTA	CCC	ACT	816	
Ser	Ala	Leu	Lys	Leu	Ala	Ile	Tyr	Lys	Ala	Thr	Asn	Leu	Val	Pro	Thr		
			260					265					270				
AGT	ACA	TTC	TTG	TTA	CAT	TCA	GAC	TTT	GAG	CAG	GTT	ACT	TGC	ATT	AAA	864	
Ser	Thr	Phe	Leu	Leu	His	Ser	Asp	Phe	Glu	Gln	Val	Thr	Cys	Ile	Lys		
		275					280					285					
GAA	AAT	AAA	ATA	GTA	AAA	TTA	TTA	TTG	TGT	CAA	AAC	TAT	GAT	CCT	CTT	912	
Glu	Asn	Lys	Ile	Val	Lys	Leu	Leu	Leu	Cys	Gln	Asn	Tyr	Asp	Pro	Leu		
	290					295					300						
TTA	GTG	GGT	CAA	CAT	GTG	TTA	AGG	TGG	ATT	GAC	AAA	AAA	TGT	GGT	AAA	960	
Leu	Val	Gly	Gln	His	Val	Leu	Arg	Trp	Ile	Asp	Lys	Lys	Cys	Gly	Lys		
305					310					315					320		
AAA	AAC	ACC	CTG	TGG	TTT	TAC	GGG	CCA	CCA	AGT	ACT	GGA	AAA	ACA	AAT	1008	
Lys	Asn	Thr	Leu	Trp	Phe	Tyr	Gly	Pro	Pro	Ser	Thr	Gly	Lys	Thr	Asn		
			325					330						335			
TTG	GCA	ATG	GCT	ATT	GCT	AAA	ACT	GTA	CCA	GTG	TAT	GGA	ATG	GTG	AAT	1056	
Leu	Ala	Met	Ala	Ile	Ala	Lys	Thr	Val	Pro	Val	Tyr	Gly	Met	Val	Asn		
			340					345					350				
TGG	AAT	AAT	GAA	AAC	TTT	CCA	TTT	AAT	GAT	GTA	GCG	GGG	AAA	AGT	TTG	1104	
Trp	Asn	Asn	Glu	Asn	Phe	Pro	Phe	Asn	Asp	Val	Ala	Gly	Lys	Ser	Leu		
			355				360					365					
GTG	GTC	TGG	GAT	GAA	GGC	ATT	ATT	AAG	TCC	ACT	ATT	GTG	GAA	GCT	GCA	1152	
Val	Val	Trp	Asp	Glu	Gly	Ile	Ile	Lys	Ser	Thr	Ile	Val	Glu	Ala	Ala		
			370			375					380						
AAA	GCC	ATT	TTA	GGT	GGT	CAG	CCA	ACC	AGG	GTA	GAT	CAG	AAA	ATG	CGT	1200	
Lys	Ala	Ile	Leu	Gly	Gly	Gln	Pro	Thr	Arg	Val	Asp	Gln	Lys	Met	Arg		
385				390						395					400		
GGC	AGT	GTG	GCA	GTG	CCC	GGT	GTG	CCT	GTG	GTT	ATA	ACC	AGC	AAT	GGT	1248	
Gly	Ser	Val	Ala	Val	Pro	Gly	Val	Pro	Val	Val	Ile	Thr	Ser	Asn	Gly		
				405					410						415		

GAC ATT ACA TTT GTT GTG AGT GGT AAT ACC ACT ACA ACT GTG CAT GCT	1296
Asp Ile Thr Phe Val Val Ser Gly Asn Thr Thr Thr Val His Ala	
420 425 430	
AAA GCC TTA AAG GAA CGG ATG GTA AAG CTA AAC TTT ACC ATA AGA TGT	1344
Lys Ala Leu Lys Glu Arg Met Val Lys Leu Asn Phe Thr Ile Arg Cys	
435 440 445	
AGC CCT GAC ATG GGT TTA CTT ACA GAG GCT GAT GTA CAA CAA TGG CTA	1392
Ser Pro Asp Met Gly Leu Leu Thr Glu Ala Asp Val Gln Gln Trp Leu	
450 455 460	
ACT TGG TGT AAT GCA CAA AGC TGG AGC CAC TAT GAA AAC TGG GCA ATA	1440
Thr Trp Cys Asn Ala Gln Ser Trp Ser His Tyr Glu Asn Trp Ala Ile	
465 470 475 480	
AAC TAC ACA TTT GAT TTC CCT GGA ATA AAT GCA GAT GCC CTC CAC CCA	1488
Asn Tyr Thr Phe Asp Phe Pro Gly Ile Asn Ala Asp Ala Leu His Pro	
485 490 495	
GAT CTC CAA ACC ACC CCC ATT GTC CCA GAC ACC AGT ATC AGC AGC AGT	1536
Asp Leu Gln Thr Thr Pro Ile Val Pro Asp Thr Ser Ile Ser Ser Ser	
500 505 510	
GGT GGT GAA AGC TCT GAA GAA CTC AGT GAA AGC AGC TTT TTC AAC CTC	1584
Gly Gly Glu Ser Ser Glu Glu Leu Ser Glu Ser Ser Phe Phe Asn Leu	
515 520 525	
ATC ACT CCA GGC GCC TGG AAC AGT GAA ACC CCG CGC TCT AGT ACG CCC	1632
Ile Thr Pro Gly Ala Trp Asn Ser Glu Thr Pro Arg Ser Ser Thr Pro	
530 535 540	
GTC CCC GGG ACC AGT TCA GGA GAA TCA TTT GTC GGA AGC CCA GTT TCC	1680
Val Pro Gly Thr Ser Ser Gly Glu Ser Phe Val Gly Ser Pro Val Ser	
545 550 555 560	
TCC GAA GTG GTA GCC GCG TCG TGG GAG GAA GCT TTT TAC ACG CCG CTT	1728
Ser Glu Val Val Ala Ala Ser Trp Glu Glu Ala Phe Tyr Thr Pro Leu	
565 570 575	
GCC GAT CAG TTT CGT GAA CTG TTA GTA GGG GTT GAC TTT GTA TGG GAT	1776
Ala Asp Gln Phe Arg Glu Leu Leu Val Gly Val Asp Phe Val Trp Asp	
580 585 590	
GGT GTG AGG GGA TTG CCT GTT TGC TGT GTG GAA CAT ATA AAC AAC AGT	1824
Gly Val Arg Gly Leu Pro Val Cys Cys Val Glu His Ile Asn Asn Ser	
595 600 605	
GGG GGA GGG TTG GGG CTT TGC CCT CAT TGT ATT AAT GTG GGA GCT TGG	1872
Gly Gly Gly Leu Gly Leu Cys Pro His Cys Ile Asn Val Gly Ala Trp	
610 615 620	
TAT AAT GGA TGG AAA TTT AGA GAG TTT ACT CCA GAC TTA GTG CGC TGC	1920
Tyr Asn Gly Trp Lys Phe Arg Glu Phe Thr Pro Asp Leu Val Arg Cys	
625 630 635 640	
AGT TGT CAT GTA GGA GCC TCT AAC CCA TTT TCT GTG TTA ACT TGT AAA	1968
Ser Cys His Val Gly Ala Ser Asn Pro Phe Ser Val Leu Thr Cys Lys	
645 650 655	
AAA TGT GCT TAC CTG TCT GGA TTA CAA AGT TTT GTA GAT TAT GAG	2013
Lys Cys Ala Tyr Leu Ser Gly Leu Gln Ser Phe Val Asp Tyr Glu	
660 665 670	

<211> 671

<212> PRT

<213> erythrovirus

<400> 82

Met Glu Leu Phe Arg Gly Val Leu His Ile Ser Ser Asn Ile Leu Asp
 1 5 10 15

Cys Ala Asn Asp Asn Trp Trp Cys Ser Met Leu Asp Leu Asp Thr Ser
 20 25 30

Asp Trp Glu Pro Leu Thr His Ser Asn Arg Leu Met Ala Ile Tyr Leu
 35 40 45

Ser Ser Val Ala Ser Lys Leu Asp Phe Thr Gly Gly Pro Leu Ala Gly
 50 55 60

Cys Leu Tyr Phe Phe Gln Val Glu Cys Asn Lys Phe Glu Glu Gly Tyr
 65 70 75 80

His Ile His Val Val Ile Gly Gly Pro Gly Leu Asn Ala Arg Asn Leu
 85 90 95

Thr Val Cys Val Glu Gly Leu Phe Asn Asn Val Leu Tyr His Leu Val
 100 105 110

Thr Glu Ser Val Lys Leu Lys Phe Leu Pro Gly Met Thr Thr Lys Gly
 115 120 125

Lys Tyr Phe Arg Asp Gly Glu Gln Phe Ile Glu Asn Tyr Leu Met Lys
 130 135 140

Lys Ile Pro Leu Asn Val Val Trp Cys Val Thr Asn Ile Asp Gly Tyr
 145 150 155 160

Ile Asp Thr Cys Ile Ser Ala Ser Phe Arg Arg Gly Ala Cys His Ala
 165 170 175

Lys Arg Pro Arg Ile Thr Ala Asn Thr Asp Ser Ala Thr Asn Glu Thr
 180 185 190

Gly Glu Ser Ser Cys Gly Gly Gly Asp Val Val Pro Phe Ala Gly Lys
 195 200 205

Gly Thr Lys Ala Gly Leu Lys Phe Gln Thr Met Val Asn Trp Leu Cys
 210 215 220

Glu Asn Arg Val Phe Thr Glu Asp Lys Trp Lys Leu Val Asp Phe Asn
 225 230 235 240

Gln Tyr Thr Leu Leu Ser Ser Ser His Ser Gly Ser Phe Gln Ile Gln
 245 250 255

Ser Ala Leu Lys Leu Ala Ile Tyr Lys Ala Thr Asn Leu Val Pro Thr
 260 265 270

Ser Thr Phe Leu Leu His Ser Asp Phe Glu Gln Val Thr Cys Ile Lys
 275 280 285

Glu Asn Lys Ile Val Lys Leu Leu Leu Cys Gln Asn Tyr Asp Pro Leu
 290 295 300

Leu Val Gly Gln His Val Leu Arg Trp Ile Asp Lys Lys Cys Gly Lys
 305 310 315 320

Lys Asn Thr Leu Trp Phe Tyr Gly Pro Pro Ser Thr Gly Lys Thr Asn

325 330 335
 Leu Ala Met Ala Ile Ala Lys Thr Val Pro Val Tyr Gly Met Val Asn
 340 345 350
 Trp Asn Asn Glu Asn Phe Pro Phe Asn Asp Val Ala Gly Lys Ser Leu
 355 360 365
 Val Val Trp Asp Glu Gly Ile Ile Lys Ser Thr Ile Val Glu Ala Ala
 370 375 380
 Lys Ala Ile Leu Gly Gly Gln Pro Thr Arg Val Asp Gln Lys Met Arg
 385 390 395 400
 Gly Ser Val Ala Val Pro Gly Val Pro Val Val Ile Thr Ser Asn Gly
 405 410 415
 Asp Ile Thr Phe Val Val Ser Gly Asn Thr Thr Thr Thr Val His Ala
 420 425 430
 Lys Ala Leu Lys Glu Arg Met Val Lys Leu Asn Phe Thr Ile Arg Cys
 435 440 445
 Ser Pro Asp Met Gly Leu Leu Thr Glu Ala Asp Val Gln Gln Trp Leu
 450 455 460
 Thr Trp Cys Asn Ala Gln Ser Trp Ser His Tyr Glu Asn Trp Ala Ile
 465 470 475 480
 Asn Tyr Thr Phe Asp Phe Pro Gly Ile Asn Ala Asp Ala Leu His Pro
 485 490 495
 Asp Leu Gln Thr Thr Pro Ile Val Pro Asp Thr Ser Ile Ser Ser Ser
 500 505 510
 Gly Gly Glu Ser Ser Glu Glu Leu Ser Glu Ser Ser Phe Phe Asn Leu
 515 520 525
 Ile Thr Pro Gly Ala Trp Asn Ser Glu Thr Pro Arg Ser Ser Thr Pro
 530 535 540
 Val Pro Gly Thr Ser Ser Gly Glu Ser Phe Val Gly Ser Pro Val Ser
 545 550 555 560
 Ser Glu Val Val Ala Ala Ser Trp Glu Glu Ala Phe Tyr Thr Pro Leu
 565 570 575
 Ala Asp Gln Phe Arg Glu Leu Leu Val Gly Val Asp Phe Val Trp Asp
 580 585 590
 Gly Val Arg Gly Leu Pro Val Cys Cys Val Glu His Ile Asn Asn Ser
 595 600 605
 Gly Gly Gly Leu Gly Leu Cys Pro His Cys Ile Asn Val Gly Ala Trp
 610 615 620
 Tyr Asn Gly Trp Lys Phe Arg Glu Phe Thr Pro Asp Leu Val Arg Cys
 625 630 635 640
 Ser Cys His Val Gly Ala Ser Asn Pro Phe Ser Val Leu Thr Cys Lys
 645 650 655
 Lys Cys Ala Tyr Leu Ser Gly Leu Gln Ser Phe Val Asp Tyr Glu
 660 665 670

<211> 222

<212> ADN

<213> erythrovirus

<400> 83

ATG CAG ATG CCC TCC ACC CAG ATC TCC AAA CCA CCC CCA TTG TCC CAG 48
 Met Gln Met Pro Ser Thr Gln Ile Ser Lys Pro Pro Pro Leu Ser Gln
 675 680 685

ACA CCA GTA TCA GCA GCA GTG GTG GTG AAA GCT CTG AAG AAC TCA GTG 96
 Thr Pro Val Ser Ala Ala Val Val Val Lys Ala Leu Lys Asn Ser Val
 690 695 700

AAA GCA GCT TTT TCA ACC TCA TCA CTC CAG GCG CCT GGA ACA GTG AAA 144
 Lys Ala Ala Phe Ser Thr Ser Ser Leu Gln Ala Pro Gly Thr Val Lys
 705 710 715

CCC CGC GCT CTA GTA CGC CCG TCC CCG GGA CCA GTT CAG GAG AAT CAT 192
 Pro Arg Ala Leu Val Arg Pro Ser Pro Gly Pro Val Gln Glu Asn His
 720 725 730 735

TTG TCG GAA GCC CAG TTT CCT CCG AAG TGG 222
 Leu Ser Glu Ala Gln Phe Pro Pro Lys Trp
 740 745

<210> 84

<211> 74

<212> PRT

<213> erythrovirus

<400> 84

Met Gln Met Pro Ser Thr Gln Ile Ser Lys Pro Pro Pro Leu Ser Gln
 1 5 10 15

Thr Pro Val Ser Ala Ala Val Val Val Lys Ala Leu Lys Asn Ser Val
 20 25 30

Lys Ala Ala Phe Ser Thr Ser Ser Leu Gln Ala Pro Gly Thr Val Lys
 35 40 45

Pro Arg Ala Leu Val Arg Pro Ser Pro Gly Pro Val Gln Glu Asn His
 50 55 60

Leu Ser Glu Ala Gln Phe Pro Pro Lys Trp
 65 70

<210> 85

<211> 2343

<212> ADN

<213> erythrovirus

<400> 85

ATG AGT AAA ACC ACT AAC AAA TGG TGG GAA AGC AGT GAC AAA TTT GCC 48
 Met Ser Lys Thr Thr Asn Lys Trp Trp Glu Ser Ser Asp Lys Phe Ala
 75 80 85 90

CAG GAC GTG TAT AAG CAG TTT GTG CAA TTT TAT GAA AAA GCT ACT GGA 96
 Gln Asp Val Tyr Lys Gln Phe Val Gln Phe Tyr Glu Lys Ala Thr Gly
 95 100 105

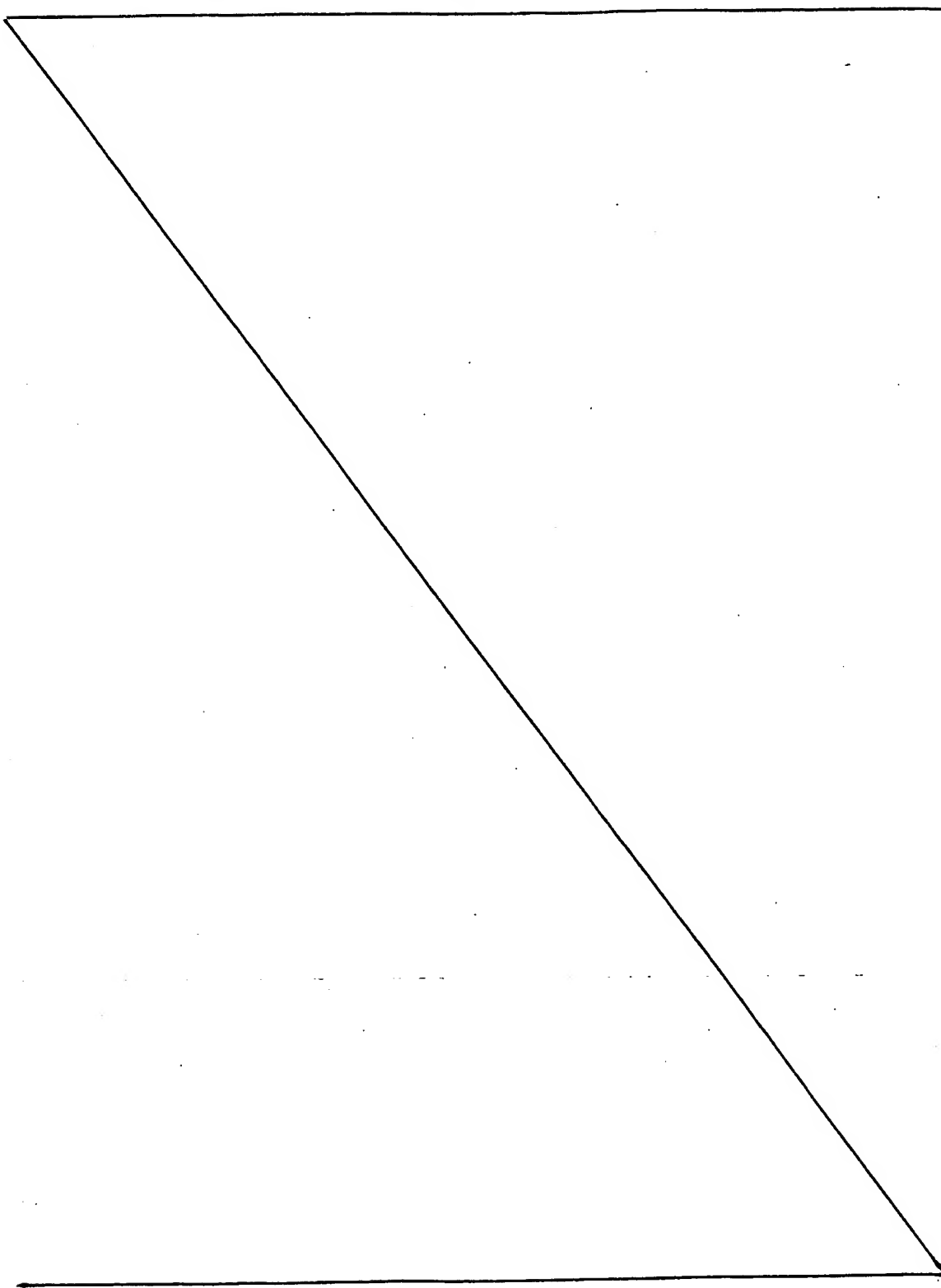
ACA GAC TTA GAG CTT ATT CAA ATT TTA AAA GAC CAT TAC AAC ATT TCT 144
 Thr Asp Leu Glu Leu Ile Gln Ile Leu Lys Asp His Tyr Asn Ile Ser
 110 115 120

TTA GAT AAT CCT TTA GAA AAC CCC TCT TCT TTA TTT GAC TTA GTT GCT Leu Asp Asn Pro Leu Glu Asn Pro Ser Ser Leu Phe Asp Leu Val Ala 125 130 135	192
CGC ATT AAA AGT AAT CTT AAA AAC TCT CCA GAC CTA TAT AGT CAT CAT Arg Ile Lys Ser Asn Leu Lys Asn Ser Pro Asp Leu Tyr Ser His His 140 145 150	240
TTT CAG AGC CAT GGA CAG TTA TCT GAC CAC CCC CAT GCC TTA TCA TCC Phe Gln Ser His Gly Gln Leu Ser Asp His Pro His Ala Leu Ser Ser 155 160 165 170	288
AGT AAC AGT AGT GCA GAA CCT AGA GGA GAA AAT GCA GTA TTA TCT AGT Ser Asn Ser Ser Ala Glu Pro Arg Gly Glu Asn Ala Val Leu Ser Ser 175 180 185	336
GAA GAC TTA CAC AAG CCT GGG CAA GTT AGC ATA CAA TTA CCC GGT ACT Glu Asp Leu His Lys Pro Gly Gln Val Ser Ile Gln Leu Pro Gly Thr 190 195 200	384
AAC TAT GTT GGG CCT GGC AAT GAG CTA CAA GCT GGG CCT CCG CAG AAT Asn Tyr Val Gly Pro Gly Asn Glu Leu Gln Ala Gly Pro Pro Gln Asn 205 210 215	432
GCT GTG GAC AGT GCT GCA AGG ATT CAT GAC TTT AGG TAT AGC CAA TTG Ala Val Asp Ser Ala Ala Arg Ile His Asp Phe Arg Tyr Ser Gln Leu 220 225 230	480
GCT AAG TTG GGA ATA AAT CCT TAT ACA CAT TGG ACG GTA GCA GAT GAA Ala Lys Leu Gly Ile Asn Pro Tyr Thr His Trp Thr Val Ala Asp Glu 235 240 245 250	528
GAA TTG TTA AAA AAT ATA AAA AAT GAA ACA GGG TTT CAA GCA CAA GCA Glu Leu Leu Lys Asn Ile Lys Asn Glu Thr Gly Phe Gln Ala Gln Ala 255 260 265	576
GTA AAA GAT TAC TTT ACT TTA AAA GGT GCA GCT GCC CCT GTG GCC CAT Val Lys Asp Tyr Phe Thr Leu Lys Gly Ala Ala Ala Pro Val Ala His 270 275 280	624
TTT CAA GGA AGT TTA CCG GAA GTG CCC GCG TAC AAC GCC TCA GAA AAA Phe Gln Gly Ser Leu Pro Glu Val Pro Ala Tyr Asn Ala Ser Glu Lys 285 290 295	672
TAC CCC AGC ATG ACT TCA GTT AAC TCT GCA GAA GCC AGC ACT GGT GCA Tyr Pro Ser Met Thr Ser Val Asn Ser Ala Glu Ala Ser Thr Gly Ala 300 305 310	720
GGC GGG GGA GGT AGC AAC CCT ACA AAA AGC ATG TGG AGT GAA GGG GCT Gly Gly Gly Gly Ser Asn Pro Thr Lys Ser Met Trp Ser Glu Gly Ala 315 320 325 330	768
ACA TTT ACT GCT AAT TCT GTA ACG TGT ACA TTC TCT AGG CAA TTT TTA Thr Phe Thr Ala Asn Ser Val Thr Cys Thr Phe Ser Arg Gln Phe Leu 335 340 345	816
ATT CCA TAT GAT CCA GAG CAT CAT TAT AAA GTG TTC TCT CCA GCA GCT Ile Pro Tyr Asp Pro Glu His His Tyr Lys Val Phe Ser Pro Ala Ala 350 355 360	864
AGT AGC TGC CAC AAT GCT AGT GGG AAA GAG GCA AAA GTG TGC ACT ATT Ser Ser Cys His Asn Ala Ser Gly Lys Glu Ala Lys Val Cys Thr Ile 365 370 375	912
AGT CCC ATT ATG GGG TAC TCT ACT CCG TGG AGA TAC TTA GAT TTT AAT Ser Pro Ile Met Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Arg Tyr Leu Asp Phe Asn	960

380	385	390	
GCT TTA AAT TTG TTT TTC TCA CCA TTA GAG TTT CAG CAC TTA ATT GAA Ala Leu Asn Leu Phe Phe Ser Pro Leu Glu Phe Gln His Leu Ile Glu 395 400 405 410			1008
AAT TAT GGT AGT ATA GCT CCA GAT GCT TTA ACT GTA ACT ATT TCA GAA Asn Tyr Gly Ser Ile Ala Pro Asp Ala Leu Thr Val Thr Ile Ser Glu 415 420 425			1056
ATT GCT GTA AAA GAT GTC ACA GAC AAA ACA GGA GGA GGT GTG CAA GTT Ile Ala Val Lys Asp Val Thr Asp Lys Thr Gly Gly Gly Val Gln Val 430 435 440			1104
ACT GAC AGC ACC ACA GGA CGT TTG TGT ATG TTA GTG GAT CAT GAG TAT Thr Asp Ser Thr Thr Gly Arg Leu Cys Met Leu Val Asp His Glu Tyr 445 450 455			1152
AAA TAC CCA TAT GTG CTA GGT CAG GGA CAA GAC ACA CTA GCT CCA GAA Lys Tyr Pro Tyr Val Leu Gly Gln Gly Gln Asp Thr Leu Ala Pro Glu 460 465 470			1200
CTG CCC ATT TGG GTT TAC TTT CCC CCC CAG TAT GCT TAC TTA ACA GTA Leu Pro Ile Trp Val Tyr Phe Pro Pro Gln Tyr Ala Tyr Leu Thr Val 475 480 485 490			1248
GGT GAA GTA AAC ACA CAA GGA ATT TCA GGA GAC AGC AAA AAA TTG GCT Gly Glu Val Asn Thr Gln Gly Ile Ser Gly Asp Ser Lys Lys Leu Ala 495 500 505			1296
AGT GAA GAA TCA GCT TTT TAT GTG TTA GAG CAC AGT TCA TTT GAA CTT Ser Glu Glu Ser Ala Phe Tyr Val Leu Glu His Ser Ser Phe Glu Leu 510 515 520			1344
TTG GGT ACA GGG GGA TCT GCC ACT ATG TCC TAC AAA TTT CCA GCT GTG Leu Gly Thr Gly Gly Ser Ala Thr Met Ser Tyr Lys Phe Pro Ala Val 525 530 535			1392
CCC CCA GAA AAC CTA GAA GGC TGC AGC CAA CAT TTT TAT GAA ATG TAC Pro Pro Glu Asn Leu Glu Gly Cys Ser Gln His Phe Tyr Glu Met Tyr 540 545 550			1440
AAC CCT TTG TAC GGT TCT CGT TTA GGG GTA CCT GAC ACA TTA GGA GGG Asn Pro Leu Tyr Gly Ser Arg Leu Gly Val Pro Asp Thr Leu Gly Gly 555 560 565 570			1488
GAC CCT AAA TTT AGA TCA TTG ACA CAC GAA GAC CAC GCA ATT CAG CCA Asp Pro Lys Phe Arg Ser Leu Thr His Glu Asp His Ala Ile Gln Pro 575 580 585			1536
CAA AAC TTT ATG CCT GGG CCA CTA ATA AAT TCA GTG TCT ACC AAA GAA Gln Asn Phe Met Pro Gly Pro Leu Ile Asn Ser Val Ser Thr Lys Glu 590 595 600			1584
GGA GAC AAT TCT AAT ACA GGT GCT GGA AAA GCC CTT ACG GGG CTT AGT Gly Asp Asn Ser Asn Thr Gly Ala Gly Lys Ala Leu Thr Gly Leu Ser 605 610 615			1632
ACT GGC ACT AGC CAA AAC ACC AGA ATT TCC CTA CGC CCC GGG CCA GTA Thr Gly Thr Ser Gln Asn Thr Arg Ile Ser Leu Arg Pro Gly Pro Val 620 625 630			1680
TCT CAG CCA TAC CAT CAC TGG GAC ACT GAT AAA TAT GTT ACA GGA ATA Ser Gln Pro Tyr His His Trp Asp Thr Asp Lys Tyr Val Thr Gly Ile 635 640 645 650			1728

AAT GCC ATT TCA CAT GGA CAA ACC ACT TAT GGA AAT GCT GAG GAC AAA
Asn Ala Ile Ser His Gly Gln Thr Thr Tyr Gly Asn Ala Glu Asp Lys
655 660 665

1776



GAG TAT CAG CAA GGG GTA GGA AGA TTT CCA AAT GAA AAA GAA CAG CTT Glu Tyr Gln Gln Gly Val Gly Arg Phe Pro Asn Glu Lys Glu Gln Leu 670 675 680	1824
AAG CAG TTA CAA GGT CTT AAC ATG CAC ACA TAC TTC CCT AAT AAA GGA Lys Gln Leu Gln Gly Leu Asn Met His Thr Tyr Phe Pro Asn Lys Gly 685 690 695	1872
ACC CAA CAA TAC ACA GAC CAA ATT GAA CGC CCT CTT ATG GTG GGC TCT Thr Gln Gln Tyr Thr Asp Gln Ile Glu Arg Pro Leu Met Val Gly Ser 700 705 710	1920
GTT TGG AAC AGA AGA GCT CTT CAC TAT GAA AGT CAG CTG TGG AGT AAA Val Trp Asn Arg Arg Ala Leu His Tyr Glu Ser Gln Leu Trp Ser Lys 715 720 725 730	1968
ATC CCT AAC TTA GAT GAC AGT TTT AAA ACT CAA TTT GCA GCC CTA GGC Ile Pro Asn Leu Asp Asp Ser Phe Lys Thr Gln Phe Ala Ala Leu Gly 735 740 745	2016
GGG TGG GGT TTG CAT CAA CCA CCC CCT CAA ATA TTT TTA AAA ATA CTA Gly Trp Gly Leu His Gln Pro Pro Gln Ile Phe Leu Lys Ile Leu 750 755 760	2064
CCA CAA AGT GGG CCA ATT GGA GGT ATT AAA TCC ATG GGA ATT ACT ACT Pro Gln Ser Gly Pro Ile Gly Gly Ile Lys Ser Met Gly Ile Thr Thr 765 770 775	2112
TTA GTT CAA TAT GCT GTG GGA ATA ATG ACA GTT ACC ATG ACC TTT AAA Leu Val Gln Tyr Ala Val Gly Ile Met Thr Val Thr Met Thr Phe Lys 780 785 790	2160
TTG GGA CCT CGA AAG GCT ACT GGA AGG TGG AAT CCC CAG CCT GGC GTT Leu Gly Pro Arg Lys Ala Thr Gly Arg Trp Asn Pro Gln Pro Gly Val 795 800 805 810	2208
TAT CCT CCT CAT GCA GCT GGT CAT TTA CCA TAT GTA CTG TAT GAC CCC Tyr Pro Pro His Ala Ala Gly His Leu Pro Tyr Val Leu Tyr Asp Pro 815 820 825	2256
ACA GCT ACA GAT GCA AAG CAA CAC CAC AGA CAC GGA TAT GAA AAG CCT Thr Ala Thr Asp Ala Lys Gln His His Arg His Gly Tyr Glu Lys Pro 830 835 840	2304
GAA GAA TTG TGG ACT GCC AAA AGC CGT GTG CAC CCA TTG Glu Glu Leu Trp Thr Ala Lys Ser Arg Val His Pro Leu 845 850 855	2343
<210> 86	
<211> 781	
<212> PRT	
<213> erythrovirus	
<400> 86	
Met Ser Lys Thr Thr Asn Lys Trp Trp Glu Ser Ser Asp Lys Phe Ala 1 5 10 15	
Gln Asp Val Tyr Lys Gln Phe Val Gln Phe Tyr Glu Lys Ala Thr Gly 20 25 30	
Thr Asp Leu Glu Leu Ile Gln Ile Leu Lys Asp His Tyr Asn Ile Ser 35 40 45	
Leu Asp Asn Pro Leu Glu Asn Pro Ser Ser Leu Phe Asp Leu Val Ala 50 55 60	

Arg Ile Lys Ser Asn Leu Lys Asn Ser Pro Asp Leu Tyr Ser His His
 65 70 75 80
 Phe Gln Ser His Gly Gln Leu Ser Asp His Pro His Ala Leu Ser Ser
 85 90 95
 Ser Asn Ser Ser Ala Glu Pro Arg Gly Glu Asn Ala Val Leu Ser Ser
 100 105 110
 Glu Asp Leu His Lys Pro Gly Gln Val Ser Ile Gln Leu Pro Gly Thr
 115 120 125
 Asn Tyr Val Gly Pro Gly Asn Glu Leu Gln Ala Gly Pro Pro Gln Asn
 130 135 140
 Ala Val Asp Ser Ala Ala Arg Ile His Asp Phe Arg Tyr Ser Gln Leu
 145 150 155 160
 Ala Lys Leu Gly Ile Asn Pro Tyr Thr His Trp Thr Val Ala Asp Glu
 165 170 175
 Glu Leu Leu Lys Asn Ile Lys Asn Glu Thr Gly Phe Gln Ala Gln Ala
 180 185 190
 Val Lys Asp Tyr Phe Thr Leu Lys Gly Ala Ala Ala Pro Val Ala His
 195 200 205
 Phe Gln Gly Ser Leu Pro Glu Val Pro Ala Tyr Asn Ala Ser Glu Lys
 210 215 220
 Tyr Pro Ser Met Thr Ser Val Asn Ser Ala Glu Ala Ser Thr Gly Ala
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Gly Ser Asn Pro Thr Lys Ser Met Trp Ser Glu Gly Ala
 245 250 255
 Thr Phe Thr Ala Asn Ser Val Thr Cys Thr Phe Ser Arg Gln Phe Leu
 260 265 270
 Ile Pro Tyr Asp Pro Glu His His Tyr Lys Val Phe Ser Pro Ala Ala
 275 280 285
 Ser Ser Cys His Asn Ala Ser Gly Lys Glu Ala Lys Val Cys Thr Ile
 290 295 300
 Ser Pro Ile Met Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Arg Tyr Leu Asp Phe Asn
 305 310 315 320
 Ala Leu Asn Leu Phe Phe Ser Pro Leu Glu Phe Gln His Leu Ile Glu
 325 330 335
 Asn Tyr Gly Ser Ile Ala Pro Asp Ala Leu Thr Val Thr Ile Ser Glu
 340 345 350
 Ile Ala Val Lys Asp Val Thr Asp Lys Thr Gly Gly Gly Val Gln Val
 355 360 365
 Thr Asp Ser Thr Thr Gly Arg Leu Cys Met Leu Val Asp His Glu Tyr
 370 375 380
 Lys Tyr Pro Tyr Val Leu Gly Gln Gly Gln Asp Thr Leu Ala Pro Glu
 385 390 395 400
 Leu Pro Ile Trp Val Tyr Phe Pro Pro Gln Tyr Ala Tyr Leu Thr Val
 405 410 415

Gly Glu Val Asn Thr Gln Gly Ile Ser Gly Asp Ser Lys Lys Leu Ala
 420 425 430
 Ser Glu Glu Ser Ala Phe Tyr Val Leu Glu His Ser Ser Phe Glu Leu
 435 440 445
 Leu Gly Thr Gly Gly Ser Ala Thr Met Ser Tyr Lys Phe Pro Ala Val
 450 455 460
 Pro Pro Glu Asn Leu Glu Gly Cys Ser Gln His Phe Tyr Glu Met Tyr
 465 470 475 480
 Asn Pro Leu Tyr Gly Ser Arg Leu Gly Val Pro Asp Thr Leu Gly Gly
 485 490 495
 Asp Pro Lys Phe Arg Ser Leu Thr His Glu Asp His Ala Ile Gln Pro
 500 505 510
 Gln Asn Phe Met Pro Gly Pro Leu Ile Asn Ser Val Ser Thr Lys Glu
 515 520 525
 Gly Asp Asn Ser Asn Thr Gly Ala Gly Lys Ala Leu Thr Gly Leu Ser
 530 535 540
 Thr Gly Thr Ser Gln Asn Thr Arg Ile Ser Leu Arg Pro Gly Pro Val
 545 550 555 560
 Ser Gln Pro Tyr His His Trp Asp Thr Asp Lys Tyr Val Thr Gly Ile
 565 570 575
 Asn Ala Ile Ser His Gly Gln Thr Thr Tyr Gly Asn Ala Glu Asp Lys
 580 585 590
 Glu Tyr Gln Gln Gly Val Gly Arg Phe Pro Asn Glu Lys Glu Gln Leu
 595 600 605
 Lys Gln Leu Gln Gly Leu Asn Met His Thr Tyr Phe Pro Asn Lys Gly
 610 615 620
 Thr Gln Gln Tyr Thr Asp Gln Ile Glu Arg Pro Leu Met Val Gly Ser
 625 630 635 640
 Val Trp Asn Arg Arg Ala Leu His Tyr Glu Ser Gln Leu Trp Ser Lys
 645 650 655
 Ile Pro Asn Leu Asp Asp Ser Phe Lys Thr Gln Phe Ala Ala Leu Gly
 660 665 670
 Gly Trp Gly Leu His Gln Pro Pro Pro Gln Ile Phe Leu Lys Ile Leu
 675 680 685
 Pro Gln Ser Gly Pro Ile Gly Gly Ile Lys Ser Met Gly Ile Thr Thr
 690 695 700
 Leu Val Gln Tyr Ala Val Gly Ile Met Thr Val Thr Met Thr Phe Lys
 705 710 715 720
 Leu Gly Pro Arg Lys Ala Thr Gly Arg Trp Asn Pro Gln Pro Gly Val
 725 730 735
 Tyr Pro Pro His Ala Ala Gly His Leu Pro Tyr Val Leu Tyr Asp Pro
 740 745 750
 Thr Ala Thr Asp Ala Lys Gln His His Arg His Gly Tyr Glu Lys Pro
 755 760 765

Glu Glu Leu Trp Thr Ala Lys Ser Arg Val His Pro Leu
 770 775 780

<210> 87
 <211> 681
 <212> ADN
 <213> erythrovirus

<400> 87
 ATG AGT AAA ACC ACT AAC AAA TGG TGG GAA AGC AGT GAC AAA TTT GCC 48
 Met Ser Lys Thr Thr Asn Lys Trp Trp Glu Ser Ser Asp Lys Phe Ala
 785 790 795

CAG GAC GTG TAT AAG CAG TTT GTG CAA TTT TAT GAA AAA GCT ACT GGA 96
 Gln Asp Val Tyr Lys Gln Phe Val Gln Phe Tyr Glu Lys Ala Thr Gly
 800 805 810

ACA GAC TTA GAG CTT ATT CAA ATT TTA AAA GAC CAT TAC AAC ATT TCT 144
 Thr Asp Leu Glu Leu Ile Gln Ile Leu Lys Asp His Tyr Asn Ile Ser
 815 820 825

TTA GAT AAT CCT TTA GAA AAC CCC TCT TCT TTA TTT GAC TTA GTT GCT 192
 Leu Asp Asn Pro Leu Glu Asn Pro Ser Ser Leu Phe Asp Leu Val Ala
 830 835 840 845

CGC ATT AAA AGT AAT CTT AAA AAC TCT CCA GAC CTA TAT AGT CAT CAT 240
 Arg Ile Lys Ser Asn Leu Lys Asn Ser Pro Asp Leu Tyr Ser His His
 850 855 860

TTT CAG AGC CAT GGA CAG TTA TCT GAC CAC CCC CAT GCC TTA TCA TCC 288
 Phe Gln Ser His Gly Gln Leu Ser Asp His Pro His Ala Leu Ser Ser
 865 870 875

AGT AAC AGT AGT GCA GAA CCT AGA GGA GAA AAT GCA GTA TTA TCT AGT 336
 Ser Asn Ser Ser Ala Glu Pro Arg Gly Glu Asn Ala Val Leu Ser Ser
 880 885 890

GAA GAC TTA CAC AAG CCT GGG CAA GTT AGC ATA CAA TTA CCC GGT ACT 384
 Glu Asp Leu His Lys Pro Gly Gln Val Ser Ile Gln Leu Pro Gly Thr
 895 900 905

AAC TAT GTT GGG CCT GGC AAT GAG CTA CAA GCT GGG CCT CCG CAG AAT 432
 Asn Tyr Val Gly Pro Gly Asn Glu Leu Gln Ala Gly Pro Pro Gln Asn
 910 915 920 925

GCT GTG GAC AGT GCT GCA AGG ATT CAT GAC TTT AGG TAT AGC CAA TTG 480
 Ala Val Asp Ser Ala Ala Arg Ile His Asp Phe Arg Tyr Ser Gln Leu
 930 935 940

GCT AAG TTG GGA ATA AAT CCT TAT ACA CAT TGG ACG GTA GCA GAT GAA 528
 Ala Lys Leu Gly Ile Asn Pro Tyr Thr His Trp Thr Val Ala Asp Glu
 945 950 955

GAA TTG TTA AAA AAT ATA AAA AAT GAA ACA GGG TTT CAA GCA CAA GCA 576
 Glu Leu Leu Lys Asn Ile Lys Asn Glu Thr Gly Phe Gln Ala Gln Ala
 960 965 970

GTA AAA GAT TAC TTT ACT TTA AAA GGT GCA GCT GCC CCT GTG GCC CAT 624
 Val Lys Asp Tyr Phe Thr Leu Lys Gly Ala Ala Ala Pro Val Ala His
 975 980 985

TTT CAA GGA AGT TTA CCG GAA GTG CCC GCG TAC AAC GCC TCA GAA AAA 672
 Phe Gln Gly Ser Leu Pro Glu Val Pro Ala Tyr Asn Ala Ser Glu Lys
 990 995 1000 1005

TAC CCC AGC
Tyr Pro Ser

681

<210> 88
<211> 227
<212> PRT
<213> erythrovirus

<400> 88
Met Ser Lys Thr Thr Asn Lys Trp Trp Glu Ser Ser Asp Lys Phe Ala
1 5 10 15
Gln Asp Val Tyr Lys Gln Phe Val Gln Phe Tyr Glu Lys Ala Thr Gly
20 25 30
Thr Asp Leu Glu Leu Ile Gln Ile Leu Lys Asp His Tyr Asn Ile Ser
35 40 45
Leu Asp Asn Pro Leu Glu Asn Pro Ser Ser Leu Phe Asp Leu Val Ala
50 55 60
Arg Ile Lys Ser Asn Leu Lys Asn Ser Pro Asp Leu Tyr Ser His His
65 70 75 80
Phe Gln Ser His Gly Gln Leu Ser Asp His Pro His Ala Leu Ser Ser
85 90 95
Ser Asn Ser Ser Ala Glu Pro Arg Gly Glu Asn Ala Val Leu Ser Ser
100 105 110
Glu Asp Leu His Lys Pro Gly Gln Val Ser Ile Gln Leu Pro Gly Thr
115 120 125
Asn Tyr Val Gly Pro Gly Asn Glu Leu Gln Ala Gly Pro Pro Gln Asn
130 135 140
Ala Val Asp Ser Ala Ala Arg Ile His Asp Phe Arg Tyr Ser Gln Leu
145 150 155 160
Ala Lys Leu Gly Ile Asn Pro Tyr Thr His Trp Thr Val Ala Asp Glu
165 170 175
Glu Leu Leu Lys Asn Ile Lys Asn Glu Thr Gly Phe Gln Ala Gln Ala
180 185 190
Val Lys Asp Tyr Phe Thr Leu Lys Gly Ala Ala Ala Pro Val Ala His
195 200 205
Phe Gln Gly Ser Leu Pro Glu Val Pro Ala Tyr Asn Ala Ser Glu Lys
210 215 220
Tyr Pro Ser
225

<210> 89
<211> 306
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 89
TTG CTC GCA TTA AAA GTA ATC TTA AAA ACT CTC CAG ACC TAT ATA GTC
Leu Leu Ala Leu Lys Val Ile Leu Lys Thr Leu Gln Thr Tyr Ile Val
230 235 240

48

ATC ATT TTC AGA GCC ATG GAC AGT TAT CTG ACC ACC CCC ATG CCT TAT

96

Ile Ile Phe Arg Ala Met Asp Ser Tyr Leu Thr Thr Pro Met Pro Tyr
 245 250 255

CAT CCA GTA ACA GTA GTG CAG AAC CTA GAG GAG AAA ATG CAG TAT TAT 144
 His Pro Val Thr Val Val Gln Asn Leu Glu Glu Lys Met Gln Tyr Tyr
 260 265 270 275

CTA GTG AAG ACT TAC ACA AGC CTG GGC AAG TTA GCA TAC AAT TAC CCG 192
 Leu Val Lys Thr Tyr Thr Ser Leu Gly Lys Leu Ala Tyr Asn Tyr Pro
 280 285 290

GTA CTA ACT ATG TTG GGC CTG GCA ATG AGC TAC AAG CTG GGC CTC CGC 240
 Val Leu Thr Met Leu Gly Leu Ala Met Ser Tyr Lys Leu Gly Leu Arg
 295 300 305

AGA ATG CTG TGG ACA GTG CTG CAA GGA TTC ATG ACT TTA GGT ATA GCC 288
 Arg Met Leu Trp Thr Val Leu Gln Gly Phe Met Thr Leu Gly Ile Ala
 310 315 320

AAT TGG CTA AGT TGG GAA 306
 Asn Trp Leu Ser Trp Glu
 325

<210> 90
 <211> 102
 <212> PRT
 <213> erythrovirus

<400> 90
 Leu Leu Ala Leu Lys Val Ile Leu Lys Thr Leu Gln Thr Tyr Ile Val
 1 5 10 15

Ile Ile Phe Arg Ala Met Asp Ser Tyr Leu Thr Thr Pro Met Pro Tyr
 20 25 30

His Pro Val Thr Val Val Gln Asn Leu Glu Glu Lys Met Gln Tyr Tyr
 35 40 45

Leu Val Lys Thr Tyr Thr Ser Leu Gly Lys Leu Ala Tyr Asn Tyr Pro
 50 55 60

Val Leu Thr Met Leu Gly Leu Ala Met Ser Tyr Lys Leu Gly Leu Arg
 65 70 75 80

Arg Met Leu Trp Thr Val Leu Gln Gly Phe Met Thr Leu Gly Ile Ala
 85 90 95

Asn Trp Leu Ser Trp Glu
 100

<210> 91
 <211> 1662
 <212> ADN
 <213> erythrovirus

<400> 91
 ATG ACT TCA GTT AAC TCT GCA GAA GCC AGC ACT GGT GCA GGC GGG GGA 48
 Met Thr Ser Val Asn Ser Ala Glu Ala Ser Thr Gly Ala Gly Gly Gly
 105 110 115

GGT AGC AAC CCT ACA AAA AGC ATG TGG AGT GAA GGG GCT ACA TTT ACT 96
 Gly Ser Asn Pro Thr Lys Ser Met Trp Ser Glu Gly Ala Thr Phe Thr
 120 125 130

GCT AAT TCT GTA ACG TGT ACA TTC TCT AGG CAA TTT TTA ATT CCA TAT	144
Ala Asn Ser Val Thr Cys Thr Phe Ser Arg Gln Phe Leu Ile Pro Tyr	
135 140 145 150	
GAT CCA GAG CAT CAT TAT AAA GTG TTC TCT CCA GCA GCT AGT AGC TGC	192
Asp Pro Glu His His Tyr Lys Val Phe Ser Pro Ala Ala Ser Ser Cys	
155 160 165	
CAC AAT GCT AGT GGG AAA GAG GCA AAA GTG TGC ACT ATT AGT CCC ATT	240
His Asn Ala Ser Gly Lys Glu Ala Lys Val Cys Thr Ile Ser Pro Ile	
170 175 180	
ATG GGG TAC TCT ACT CCG TGG AGA TAC TTA GAT TTT AAT GCT TTA AAT	288
Met Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Arg Tyr Leu Asp Phe Asn Ala Leu Asn	
185 190 195	
TTG TTT TTC TCA CCA TTA GAG TTT CAG CAC TTA ATT GAA AAT TAT GGT	336
Leu Phe Phe Ser Pro Leu Glu Phe Gln His Leu Ile Glu Asn Tyr Gly	
200 205 210	
AGT ATA GCT CCA GAT GCT TTA ACT GTA ACT ATT TCA GAA ATT GCT GTA	384
Ser Ile Ala Pro Asp Ala Leu Thr Val Thr Ile Ser Glu Ile Ala Val	
215 220 225 230	
AAA GAT GTC ACA GAC AAA ACA GGA GGA GGT GTG CAA GTT ACT GAC AGC	432
Lys Asp Val Thr Asp Lys Thr Gly Gly Gly Val Gln Val Thr Asp Ser	
235 240 245	
ACC ACA GGA CGT TTG TGT ATG TTA GTG GAT CAT GAG TAT AAA TAC CCA	480
Thr Thr Gly Arg Leu Cys Met Leu Val Asp His Glu Tyr Lys Tyr Pro	
250 255 260	
TAT GTG CTA GGT CAG GGA CAA GAC ACA CTA GCT CCA GAA CTG CCC ATT	528
Tyr Val Leu Gly Gln Gly Gln Asp Thr Leu Ala Pro Glu Leu Pro Ile	
265 270 275	
TGG GTT TAC TTT CCC CCC CAG TAT GCT TAC TTA ACA GTA GGT GAA GTA	576
Trp Val Tyr Phe Pro Pro Gln Tyr Ala Tyr Leu Thr Val Gly Glu Val	
280 285 290	
AAC ACA CAA GGA ATT TCA GGA GAC AGC AAA AAA TTG GCT AGT GAA GAA	624
Asn Thr Gln Gly Ile Ser Gly Asp Ser Lys Lys Leu Ala Ser Glu Glu	
295 300 305 310	
TCA GCT TTT TAT GTG TTA GAG CAC AGT TCA TTT GAA CTT TTG GGT ACA	672
Ser Ala Phe Tyr Val Leu Glu His Ser Ser Phe Glu Leu Leu Gly Thr	
315 320 325	
GGG GGA TCT GCC ACT ATG TCC TAC AAA TTT CCA GCT GTG CCC CCA GAA	720
Gly Gly Ser Ala Thr Met Ser Tyr Lys Phe Pro Ala Val Pro Pro Glu	
330 335 340	
AAC CTA GAA GGC TGC AGC CAA CAT TTT TAT GAA ATG TAC AAC CCT TTG	768
Asn Leu Glu Gly Cys Ser Gln His Phe Tyr Glu Met Tyr Asn Pro Leu	
345 350 355	
TAC GGT TCT CGT TTA GGG GTA CCT GAC ACA TTA GGA GGG GAC CCT AAA	816
Tyr Gly Ser Arg Leu Gly Val Pro Asp Thr Leu Gly Gly Asp Pro Lys	
360 365 370	
TTT AGA TCA TTG ACA CAC GAA GAC CAC GCA ATT CAG CCA CAA AAC TTT	864
Phe Arg Ser Leu Thr His Glu Asp His Ala Ile Gln Pro Gln Asn Phe	
375 380 385 390	
ATG CCT GGG CCA CTA ATA AAT TCA GTG TCT ACC AAA GAA GGA GAC AAT	912
Met Pro Gly Pro Leu Ile Asn Ser Val Ser Thr Lys Glu Gly Asp Asn	

395	400	405	
TCT AAT ACA GGT GCT GGA AAA GCC CTT ACG GGG CTT AGT ACT GGC ACT Ser Asn Thr Gly Ala Gly Lys Ala Leu Thr Gly Leu Ser Thr Gly Thr 410 415 420			960
AGC CAA AAC ACC AGA ATT TCC CTA CGC CCC GGG CCA GTA TCT CAG CCA Ser Gln Asn Thr Arg Ile Ser Leu Arg Pro Gly Pro Val Ser Gln Pro 425 430 435			1008
TAC CAT CAC TGG GAC ACT GAT AAA TAT GTT ACA GGA ATA AAT GCC ATT Tyr His His Trp Asp Thr Asp Lys Tyr Val Thr Gly Ile Asn Ala Ile 440 445 450			1056
TCA CAT GGA CAA ACC ACT TAT GGA AAT GCT GAG GAC AAA GAG TAT CAG Ser His Gly Gln Thr Thr Tyr Gly Asn Ala Glu Asp Lys Glu Tyr Gln 455 460 465 470			1104
CAA GGG GTA GGA AGA TTT CCA AAT GAA AAA GAA CAG CTT AAG CAG TTA Gln Gly Val Gly Arg Phe Pro Asn Glu Lys Glu Gln Leu Lys Gln Leu 475 480 485			1152
CAA GGT CTT AAC ATG CAC ACA TAC TTC CCT AAT AAA GGA ACC CAA CAA Gln Gly Leu Asn Met His Thr Tyr Phe Pro Asn Lys Gly Thr Gln Gln 490 495 500			1200
TAC ACA GAC CAA ATT GAA CGC CCT CTT ATG GTG GGC TCT GTT TGG AAC Tyr Thr Asp Gln Ile Glu Arg Pro Leu Met Val Gly Ser Val Trp Asn 505 510 515			1248
AGA AGA GCT CTT CAC TAT GAA AGT CAG CTG TGG AGT AAA ATC CCT AAC Arg Arg Ala Leu His Tyr Glu Ser Gln Leu Trp Ser Lys Ile Pro Asn 520 525 530			1296
TTA GAT GAC AGT TTT AAA ACT CAA TTT GCA GCC CTA GGC GGG TGG GGT Leu Asp Asp Ser Phe Lys Thr Gln Phe Ala Leu Gly Gly Trp Gly 535 540 545 550			1344
TTG CAT CAA CCA CCC CCT CAA ATA TTT TTA AAA ATA CTA CCA CAA AGT Leu His Gln Pro Pro Pro Gln Ile Phe Leu Lys Ile Leu Pro Gln Ser 555 560 565			1392
GGG CCA ATT GGA GGT ATT AAA TCC ATG GGA ATT ACT ACT TTA GTT CAA Gly Pro Ile Gly Gly Ile Lys Ser Met Gly Ile Thr Thr Leu Val Gln 570 575 580			1440
TAT GCT GTG GGA ATA ATG ACA GTT ACC ATG ACC TTT AAA TTG GGA CCT Tyr Ala Val Gly Ile Met Thr Val Thr Met Thr Phe Lys Leu Gly Pro 585 590 595			1488
CGA AAG GCT ACT GGA AGG TGG AAT CCC CAG CCT GGC GTT TAT CCT CCT Arg Lys Ala Thr Gly Arg Trp Asn Pro Gln Pro Gly Val Tyr Pro Pro 600 605 610			1536
CAT GCA GCT GGT CAT TTA CCA TAT GTA CTG TAT GAC CCC ACA GCT ACA His Ala Ala Gly His Leu Pro Tyr Val Leu Tyr Asp Pro Thr Ala Thr 615 620 625 630			1584
GAT GCA AAG CAA CAC CAC AGA CAC GGA TAT GAA AAG CCT GAA GAA TTG Asp Ala Lys Gln His His Arg His Gly Tyr Glu Lys Pro Glu Glu Leu 635 640 645			1632
TGG ACT GCC AAA AGC CGT GTG CAC CCA TTG Trp Thr Ala Lys Ser Arg Val His Pro Leu 650 655			1662

<210> 92
 <211> 554
 <212> PRT
 <213> erythrovirus

<400> 92

```

Met Thr Ser Val Asn Ser Ala Glu Ala Ser Thr Gly Ala Gly Gly Gly
 1          5          10          15

Gly Ser Asn Pro Thr Lys Ser Met Trp Ser Glu Gly Ala Thr Phe Thr
          20          25          30

Ala Asn Ser Val Thr Cys Thr Phe Ser Arg Gln Phe Leu Ile Pro Tyr
          35          40          45

Asp Pro Glu His His Tyr Lys Val Phe Ser Pro Ala Ala Ser Ser Cys
          50          55          60

His Asn Ala Ser Gly Lys Glu Ala Lys Val Cys Thr Ile Ser Pro Ile
          65          70          75          80

Met Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Arg Tyr Leu Asp Phe Asn Ala Leu Asn
          85          90          95

Leu Phe Phe Ser Pro Leu Glu Phe Gln His Leu Ile Glu Asn Tyr Gly
          100          105          110

Ser Ile Ala Pro Asp Ala Leu Thr Val Thr Ile Ser Glu Ile Ala Val
          115          120          125

Lys Asp Val Thr Asp Lys Thr Gly Gly Gly Val Gln Val Thr Asp Ser
          130          135          140

Thr Thr Gly Arg Leu Cys Met Leu Val Asp His Glu Tyr Lys Tyr Pro
          145          150          155          160

Tyr Val Leu Gly Gln Gly Gln Asp Thr Leu Ala Pro Glu Leu Pro Ile
          165          170          175

Trp Val Tyr Phe Pro Pro Gln Tyr Ala Tyr Leu Thr Val Gly Glu Val
          180          185          190

Asn Thr Gln Gly Ile Ser Gly Asp Ser Lys Lys Leu Ala Ser Glu Glu
          195          200          205

Ser Ala Phe Tyr Val Leu Glu His Ser Ser Phe Glu Leu Leu Gly Thr
          210          215          220

Gly Gly Ser Ala Thr Met Ser Tyr Lys Phe Pro Ala Val Pro Pro Glu
          225          230          235          240

Asn Leu Glu Gly Cys Ser Gln His Phe Tyr Glu Met Tyr Asn Pro Leu
          245          250          255

Tyr Gly Ser Arg Leu Gly Val Pro Asp Thr Leu Gly Gly Asp Pro Lys
          260          265          270

Phe Arg Ser Leu Thr His Glu Asp His Ala Ile Gln Pro Gln Asn Phe
          275          280          285

Met Pro Gly Pro Leu Ile Asn Ser Val Ser Thr Lys Glu Gly Asp Asn
          290          295          300

Ser Asn Thr Gly Ala Gly Lys Ala Leu Thr Gly Leu Ser Thr Gly Thr
          305          310          315          320

```

Ser Gln Asn Thr Arg Ile Ser Leu Arg Pro Gly Pro Val Ser Gln Pro
 325 330 335

Tyr His His Trp Asp Thr Asp Lys Tyr Val Thr Gly Ile Asn Ala Ile
 340 345 350

Ser His Gly Gln Thr Thr Tyr Gly Asn Ala Glu Asp Lys Glu Tyr Gln
 355 360 365

Gln Gly Val Gly Arg Phe Pro Asn Glu Lys Glu Gln Leu Lys Gln Leu
 370 375 380

Gln Gly Leu Asn Met His Thr Tyr Phe Pro Asn Lys Gly Thr Gln Gln
 385 390 395 400

Tyr Thr Asp Gln Ile Glu Arg Pro Leu Met Val Gly Ser Val Trp Asn
 405 410 415

Arg Arg Ala Leu His Tyr Glu Ser Gln Leu Trp Ser Lys Ile Pro Asn
 420 425 430

Leu Asp Asp Ser Phe Lys Thr Gln Phe Ala Ala Leu Gly Gly Trp Gly
 435 440 445

Leu His Gln Pro Pro Pro Gln Ile Phe Leu Lys Ile Leu Pro Gln Ser
 450 455 460

Gly Pro Ile Gly Gly Ile Lys Ser Met Gly Ile Thr Thr Leu Val Gln
 465 470 475 480

Tyr Ala Val Gly Ile Met Thr Val Thr Met Thr Phe Lys Leu Gly Pro
 485 490 495

Arg Lys Ala Thr Gly Arg Trp Asn Pro Gln Pro Gly Val Tyr Pro Pro
 500 505 510

His Ala Ala Gly His Leu Pro Tyr Val Leu Tyr Asp Pro Thr Ala Thr
 515 520 525

Asp Ala Lys Gln His His Arg His Gly Tyr Glu Lys Pro Glu Glu Leu
 530 535 540

Trp Thr Ala Lys Ser Arg Val His Pro Leu
 545 550

<210> 93

<211> 396

<212> ADN

<213> erythrovirus

<400> 93

CCT TTA AAT TGG GAC CTC GAA AGG CTA CTG GAA GGT GGA ATC CCC AGC
 Pro Leu Asn Trp Asp Leu Glu Arg Leu Leu Glu Gly Gly Ile Pro Ser
 555 560 565 570

48

CTG GCG TTT ATC CTC CTC ATG CAG CTG GTC ATT TAC CAT ATG TAC TGT
 Leu Ala Phe Ile Leu Leu Met Gln Leu Val Ile Tyr His Met Tyr Cys
 575 580 585

96

ATG ACC CCA CAG CTA CAG ATG CAA AGC AAC ACC ACA GAC ACG GAT ATG
 Met Thr Pro Gln Leu Gln Met Gln Ser Asn Thr Thr Asp Thr Asp Met
 590 595 600

144

AAA AGC CTG AAG AAT TGT GGA CTG CCA AAA GCC GTG TGC ACC CAT TGT
 Lys Ser Leu Lys Asn Cys Gly Leu Pro Lys Ala Val Cys Thr His Cys
 605 610 615

192

AAA CAT TCC CCA CCG TGT CCT CAG CCA GGA ACC GTC ACC CAC CGC CCA 240
 Lys His Ser Pro Pro Cys Pro Gln Pro Gly Thr Val Thr His Arg Pro
 620 625 630
 CCT GTG CCG CCC AGA TTA TAT GTG CCC CCT CCA ATA CCC CGT AGG CAA 288
 Pro Val Pro Pro Arg Leu Tyr Val Pro Pro Pro Ile Pro Arg Arg Gln
 635 640 645 650
 CCA TCT ATA AAA GAT ACA GAC GCT GTA GAA TAT AAA TTA TTA ACT AGA 336
 Pro Ser Ile Lys Asp Thr Asp Ala Val Glu Tyr Lys Leu Leu Thr Arg
 655 660 665
 TAT GAA CAA CAT GTA ATT AGA ATG CTA AGA TTA TGT AAT ATG TAC ACA 384
 Tyr Glu Gln His Val Ile Arg Met Leu Arg Leu Cys Asn Met Tyr Thr
 670 675 680
 AGT TTG GAA AAA 396
 Ser Leu Glu Lys
 685

<210> 94
 <211> 132
 <212> PRT
 <213> erythrovirus

<400> 94
 Pro Leu Asn Trp Asp Leu Glu Arg Leu Leu Glu Gly Gly Ile Pro Ser
 1 5 10 15
 Leu Ala Phe Ile Leu Leu Met Gln Leu Val Ile Tyr His Met Tyr Cys
 20 25 30
 Met Thr Pro Gln Leu Gln Met Gln Ser Asn Thr Thr Asp Thr Asp Met
 35 40 45
 Lys Ser Leu Lys Asn Cys Gly Leu Pro Lys Ala Val Cys Thr His Cys
 50 55 60
 Lys His Ser Pro Pro Cys Pro Gln Pro Gly Thr Val Thr His Arg Pro
 65 70 75 80
 Pro Val Pro Pro Arg Leu Tyr Val Pro Pro Pro Ile Pro Arg Arg Gln
 85 90 95
 Pro Ser Ile Lys Asp Thr Asp Ala Val Glu Tyr Lys Leu Leu Thr Arg
 100 105 110
 Tyr Glu Gln His Val Ile Arg Met Leu Arg Leu Cys Asn Met Tyr Thr
 115 120 125
 Ser Leu Glu Lys
 130

<210> 95
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> erythrovirus

<400> 95
 Met Ser Lys Thr Thr Asn Lys Trp Trp Glu Ser Ser Asp Lys Phe Ala
 1 5 10 15
 Gln Asp Val Tyr Lys Gln Phe Val Gln Phe Tyr Glu Lys Ala Thr Gly
 20 25 30

Thr Asp Leu Glu Leu Ile Gln Ile
35 40

<210> 96
<211> 21
<212> PRT
<213> erythrovirus

<400> 96
Ser Leu Phe Asp Leu Val Ala Arg Ile Lys Ser Asn Leu Lys Asn Ser
1 5 10 15
Pro Asp Leu Tyr Ser
20

<210> 97
<211> 24
<212> PRT
<213> erythrovirus

<400> 97
Leu Ser Asp His Pro His Ala Leu Ser Ser Ser Asn Ser Ser Ala Glu
1 5 10 15
Pro Arg Gly Glu Asn Ala Val Leu
20

<210> 98
<211> 21
<212> PRT
<213> erythrovirus

<400> 98
Glu Asp Leu His Lys Pro Gly Gln Val Ser Ile Gln Leu Pro Gly Thr
1 5 10 15
Asn Tyr Val Gly Pro
20

<210> 99
<211> 22
<212> PRT
<213> erythrovirus

<400> 99
Gly Asn Glu Leu Gln Ala Gly Pro Pro Gln Asn Ala Val Asp Ser Ala
1 5 10 15
Ala Arg Ile His Asp Phe
20

<210> 100
<211> 21
<212> PRT
<213> erythrovirus

<400> 100
Ile Lys Asn Glu Thr Gly Phe Gln Ala Gln Ala Val Lys Asp Tyr Phe
1 5 10 15
Thr Leu Lys Gly Ala
20

<210> 101
<211> 32
<212> PRT

<213> erythrovirus

<400> 101

Ser Thr Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ser Asn Pro Thr Lys Ser Met Trp
1 5 10 15

Ser Glu Gly Ala Thr Phe Thr Ala Asn Ser Val Thr Cys Thr Phe Ser
20 25 30

<210> 102

<211> 21

<212> PRT

<213> erythrovirus

<400> 102

Pro Pro Gln Tyr Ala Tyr Leu Thr Val Gly Glu Val Asn Thr Gln Gly
1 5 10 15

Ile Ser Gly Asp Ser
20

<210> 103

<211> 37

<212> PRT

<213> erythrovirus

<400> 103

Ala Phe Tyr Val Leu Glu His Ser Ser Phe Glu Leu Leu Gly Thr Gly
1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Met Ser Tyr Lys Phe Pro Ala Val Pro Pro Glu Asn
20 25 30

Leu Glu Gly Cys Ser
35

<210> 104

<211> 28

<212> PRT

<213> erythrovirus

<400> 104

Gln Asn Phe Met Pro Gly Pro Leu Ile Asn Ser Val Ser Thr Lys Glu
1 5 10 15

Gly Asp Asn Ser Asn Thr Gly Ala Gly Lys Ala Leu
20 25

<210> 105

<211> 19

<212> ADN

<213> erythrovirus

<400> 105

TGCAGATGCC CTCCACCCA

19

<210> 106

<211> 21

<212> ADN

<213> erythrovirus

<400> 106

GCTGCTTTCA CTGAGTTCTT C

21

<210> 107

<211> 20

<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 107
GACCAGTTCA GGAGAATCAT 20

<210> 108
<211> 19
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 108
ATCGGCAAGC GGCGTGTA 19

<210> 109
<211> 20
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 109
ATCCAGACAG GTAAGCACAT 20

<210> 110
<211> 21
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 110
ATCGGCAAGC GGCGTGTA A 21

<210> 111
<211> 19
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 111
CATGCCTTAT CATCCAGTA 19

<210> 112
<211> 20
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 112
TTGGCTATAC CTAAAGTCAT 20

<210> 113
<211> 19
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 113
CACTATGAAA ACTGGGCAA 19

<210> 114
<211> 19
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 114
ACAATTCTTC ATCTGCTAC 19

<210> 115
<211> 21
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 115
AAACTGGGCA ATAACTACA C

21

<210> 116
<211> 20
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 116
CTTCATCTGC TACCGTCCAA

20

<210> 117
<211> 33
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 117
AAAGGCCTAG ATCTTGTAGA TTATGAGTAA AAC

33

<210> 118
<211> 26
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 118
CGGAATTCGG TGGGTGACGG TTCCTG

26

<210> 119
<211> 29
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 119
CACGGATCCA TACCCAGCA TGACTTCAG

29

<210> 120
<211> 26
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 120
CACGGATCCG GTGGGTGACG GTTCCTG

26

<210> 121
<211> 36
<212> ADN
<213> erythrovirus

<400> 121
ACCAATATCA GCAGCAGTGG TGGTGAAAGC TCTGAA

36



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C07K 14/015, C12N 15/35, 15/64, 15/11, C12Q 1/68, C07K 16/08, G01N 33/53, A61K 39/12	A3	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/28439 (43) Date de publication internationale: 10 juin 1999 (10.06.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/02615 (22) Date de dépôt international: 3 décembre 1998 (03.12.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/15197 3 décembre 1997 (03.12.97) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): ASSISTANCE PUBLIQUE-HOPITAUX DE PARIS [FR/FR]; 3, avenue Victoria, F-75004 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): NGUYEN, Quang, Tri [FR/FR]; 129, avenue Maurice Thorez, F-94200 Ivry sur Seine (FR). GARBARG-CHENON, Antoine [FR/FR]; 8, place Charles Fillion, F-75017 Paris (FR). AUGUSTE, Véronique [FR/FR]; 22/30, rue du Borrego, F-75020 Paris (FR). (74) Mandataire: CABINET ORES; 6, avenue de Messine, F-75008 Paris (FR).	(81) Etats désignés: AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CU, CZ, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, SD, SG, SI, SK, SL, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i> (88) Date de publication du rapport de recherche internationale: 22 juillet 1999 (22.07.99)	
(54) Title: ERYTHROVIRUS AND ITS APPLICATIONS (54) Titre: ERYTHROVIRUS ET SES APPLICATIONS (57) Abstract The invention concerns nucleic sequences derived from a human erythrovirus, their fragments and their applications as diagnostic reagent and as immunogenic agent. Said sequences are selected among the sequences having a ≥ 10 % genetic divergence over the whole genome with respect to the B19 erythrovirus sequences, the sequence SEQ ID NO:1 and the nucleotide sequences capable of being hybridized with said sequence ID NO:1. (57) Abrégé Séquences nucléiques issues d'un érythrovirus humain, leurs fragments ainsi que leurs applications, en tant que réactif de diagnostic et en tant qu'agent immunogène. Ces séquences sont sélectionnées parmi les séquences présentant une divergence génétique ≥ 10 % sur l'ensemble du génome par rapport aux séquences de l'érythrovirus B19, la séquence SEQ ID NO:1 et les séquences nucléotidiques capables de s'hybrider avec ladite séquence ID NO:1.		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroon	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 98/02615

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07K14/015 C12N15/35 C12N15/64 C12N15/11 C12Q1/68
C07K16/08 G01N33/53 A61K39/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C12N C07K C12Q G01N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>R.O. SHADE ET AL.,: "Nucleotide sequence and genome organization of human Parvovirus B19 isolated from the serum of a child during aplastic crisis" JOURNAL OF VIROLOGY, vol. 58, no. 3, 1986, pages 921-936, XP002005737 Washington, DC, US cited in the application see page 930, column 2; figures 2,7 see page 934, column 1, last paragraph - page 934, column 2, last paragraph --- -/--</p>	<p>1,3,8,9, 15,17-19</p>

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 May 1999

Date of mailing of the international search report

01/06/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mateo Rosell, A.M.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. l. Application No
PCT/FR 98/02615

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE EMBL NUCLEOTIDE AND PROTEIN SEQUENCE, - 8 October 1997 XP002079558 Hinxton, GB AC= E09420. Nucleotide encoding human parvovirus - & DATABASE WPI Week 9532 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 95-242756 XP002079561 & JP 07 147986 A (DENKA SEIKEN KK, DENKI KAGAKU KOGYO KK), 13 June 1995 see abstract</p>	1,3,8,9, 15,17-19
A	<p>A. HEMAUER ET AL.,: "Sequence variability among different parvovirus B19 isolates" JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY, vol. 77, 1996, pages 1781-1785, XP002079559 Reading, GB see Figure X</p>	1,3,8,9, 15,17-19
A	<p>K.E HICKS ET AL.,: "Sequence analysis of a parvovirus B19 isolate and baculovirus expression of the non-structural proteins" ARCHIVES OF VIROLOGY, vol. 141, 1996, pages 1319-1327, XP002079560 see figure Y</p>	1,3,8,9, 15,17-19
A	<p>WO 96 09391 A (H. WOLF ET AL.,) 28 March 1996 cited in the application see abstract see page 3, paragraph 2 - page 5, last paragraph</p>	1,3,8, 15,19-23
A	<p>DE 40 03 826 A (MIKROGEN MOLEKULARBIOLOGISCHE) 14 August 1991 see page 2-4; examples 1,4,5 & WO 91 12269 A cited in the application</p>	1,3,8, 15,19-23
P,X	<p>NGUYEN QT ET AL., : "Detection of an erythrovirus sequence distinct from B19 in a child with acute anaemia (letter)" LANCET, vol. 352, no. 9139, 7 November 1998, page p1524 XP002102846 see the whole document</p>	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/FR 98/02615

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9609391	A	28-03-1996	AU 3698595 A EP 0783580 A	09-04-1996 16-07-1997
DE 4003826	A	14-08-1991	AT 105303 T AU 650864 B AU 7211591 A CA 2075366 A WO 9112269 A DE 59101577 D DK 514413 T EP 0514413 A ES 2052370 T JP 5504143 T	15-05-1994 07-07-1994 03-09-1991 09-08-1991 22-08-1991 09-06-1994 06-06-1994 25-11-1992 01-07-1994 01-07-1993

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der le internationale No

PCT/FR 98/02615

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6 C07K14/015 C12N15/35 C12N15/64 C12N15/11 C12Q1/68
C07K16/08 G01N33/53 A61K39/12

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 C12N C07K C12Q G01N A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>R.O. SHADE ET AL.,: "Nucleotide sequence and genome organization of human Parvovirus B19 isolated from the serum of a child during aplastic crisis" JOURNAL OF VIROLOGY, vol. 58, no. 3, 1986, pages 921-936, XP002005737 Washington, DC, US cité dans la demande voir page 930, colonne 2; figures 2,7 voir page 934, colonne 1, dernier alinéa - page 934, colonne 2, dernier alinéa --- -/--</p>	1,3,8,9, 15,17-19

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

17 mai 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

01/06/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Mateo Rosell, A.M.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der le Internationale No

PCT/FR 98/02615

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	DATABASE EMBL NUCLEOTIDE AND PROTEIN SEQUENCE, - 8 octobre 1997 XP002079558 Hinxton, GB AC= E09420. Nucleotide encoding human parvovirus	1,3,8,9, 15,17-19
A	-& DATABASE WPI Week 9532 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 95-242756 XP002079561 & JP 07 147986 A (DENKA SEIKEN KK, DENKI KAGAKU KOGYO KK), 13 juin 1995 voir abrégé	1-23
A	--- A. HEMAUER ET AL.,: "Sequence variability among different parvovirus B19 isolates" JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY, vol. 77, 1996, pages 1781-1785, XP002079559 Reading, GB voir Figure X	1,3,8,9, 15,17-19
A	--- K.E HICKS ET AL.,: "Sequence analysis of a parvovirus B19 isolate and baculovirus expression of the non-structural proteins" ARCHIVES OF VIROLOGY, vol. 141, 1996, pages 1319-1327, XP002079560 voir Figure Y	1,3,8,9, 15,17-19
A	--- WO 96 09391 A (H. WOLF ET AL.,) 28 mars 1996 cité dans la demande voir abrégé voir page 3, alinéa 2 - page 5, dernier alinéa	1,3,8, 15,19-23
A	--- DE 40 03 826 A (MIKROGEN MOLEKULARBIOLOGISCHE) 14 août 1991 voir page 2-4; exemples 1,4,5 & WO 91 12269 A cité dans la demande	1,3,8, 15,19-23
P,X	--- NGUYEN QT ET AL., : "Detection of an erythrovirus sequence distinct from B19 in a child with acute anaemia (letter)" LANCET, vol. 352, no. 9139, 7 novembre 1998, page p1524 XP002102846 voir le document en entier	1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Den... Internationale No

PCT/FR 98/02615

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9609391 A	28-03-1996	AU 3698595 A EP 0783580 A	09-04-1996 16-07-1997
DE 4003826 A	14-08-1991	AT 105303 T AU 650864 B AU 7211591 A CA 2075366 A WO 9112269 A DE 59101577 D DK 514413 T EP 0514413 A ES 2052370 T JP 5504143 T	15-05-1994 07-07-1994 03-09-1991 09-08-1991 22-08-1991 09-06-1994 06-06-1994 25-11-1992 01-07-1994 01-07-1993

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brsail	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Caméroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						